منتجات الألبان الداعمة للحيوية

Probiotic Dairy Products

د. طارق مراد النمر
استاذ علوم وتكنولوجيا الألبان المساعد

د. سامح علي عوض
استاذ علوم وتكنولوجيا الألبان المساعد

قسم علوم وتكنولوجيا الألبان
كلية الزراعة – الشاطبى
جامعة الإسكندرية

2005



مكتبة بستان المعرفة
لطبع ونشر وتوزيع الكتب
كفر الدوار – الحدائق ☎: ٠٤٥/٢٢٢٤٢٢٨
الإسكندرية: ٠١٢٣٥٣٤٨١٤

اسم الكتاب	منتجات الألبان الداعمة للحيوية
اسم المؤلفين	د/ طارق مراد النمر & د/ سامح على عوض
رقم الإيداع	٢٠٠٤/٥٤٣٨
الترقيم الدولى	I.S.B.N 977-6015-84-0
الطبعة	الأولى
الناشر	مكتبة بستان المعرفة
	كفر الدوار ــ الحدائق ــ ٦٧ ش الحدائق بجوار نقابة التطبيقيين
	تليفون: ٠٤٥/٢٢٢٤٢٢٨ الإسكندرية ٠١٢٣٥٣٤٨١٤
الطباعة	مطبعة الأمل ــ العصافره ــ إسكندرية

منتجات الألبان الداعمة للحيوية

مُقَدِّمَة

لقد إتضح جليا مدي الارتباط الوثيق بين الغذاء والصحة منذ ظهور الانسان علي سطح الارض، هذا الارتباط ليس فقط المقصود به سوء أو نقص التغذية وما يترتب عليه من امراض عديدة ولكن الارتباط المقصود به مدي توافق التوليفات الغذائية للانسان وصحته. ومع تقدم طرق العلاج الاكلينيكية والتطور الهائل في المجال الطبي لمجابهة الأمراض، الا أن غذاء الانسان حفظ لنفسه باسرار لم يبوح عنها الا مؤخرا وسط هذه الموجات التكنولوجية من التطور مؤكدا انه من اهم الطرق لتحسين صحة الانسان ليس فقط علي مستويات نشوء المرض وانما تخطي ذلك الي مكافحة المرض ذاته.

واللبن وهو من اشهر الافرازات الطبيعية علي الاطلاق الذي اشار المولي عز وجل له حيث قال في محكم كتابه {وَإِنَّ لَكُمْ فِي الْأَنْعَامِ لَعِبْرَةً نُّسْقِيكُم مِّمَّا فِي بُطُونِهِ مِن بَيْنِ فَرْثٍ وَدَمٍ لَّبَنًا خَالِصًا سَائِغًا لِّلشَّارِبِينَ} (النحل ٦٦) ولربما تكون العبرة التي اراد بها الله عز وجل ان يبينها لعباده لم تقتصر علي افراز اللبن ذاته وانما تخطي ذلك الي استخدام هذا الافراز الطبيعي في اغراض علاجية عصي علي بني آدم مجابهتها حتي الأن بمعداته الطبيه المتطورة الباهظة التكاليف. حيث يوفر الله عز وجل لعباده الفقراء غذاءً طبيعيا يكون له هذه الضجة الكبيرة من الأهمية الأن والتي ربما أن تستمر لسنوات وسنوات فيما يعرف بالعلاج بمنتجات الألبان ولما لها من محتويات ميكروبية داعمة للنشاط الحيوي من شأنها احداث هذا الأثر.

ولعل من نافلة القول أن أهم وأخطر امراض العصر علي الإطلاق هي امراض القلب والسرطان والذي اثبت العلم بان ثلث مسبباته راجعا للوجبة الغذائية فضلا عن المسببات الأخري، مما جعل الانسان يلهث إزاء احتواء مسببات هذه الامراض لكنه فشل حتي الأن. وبقيت العبرة التي اشار اليها المولي عز وجل في اللبن في انه ايضا يمكن استخدام ذلك الافراز فائق الأعجاز في خلقه، لمثل هذه الأغراض. ولقد اكد الحق سبحانه وتعالي ذلك في ايه اخري {وَإِنَّ لَكُمْ فِي الْأَنْعَامِ لَعِبْرَةً نُّسْقِيكُم مِّمَّا فِي بُطُونِهَا وَلَكُمْ فِيهَا

منافع كثيرة ومنها تأكلون} (المؤمنون ٢١) مما دفع كثير من الأطباء الأن بمرافقة تلك المنتجات الداعمة للحيوية ذات الأغراض الخاصة لأكثر طرق العلاج تطورا وشيوعا. رغم ان ميتشينكوف Metchinkoff الذي لاحظ تلك العلاقة بين صحة الانسان الجيدة وطول عمره وبين تناولة للألبان المتخمرة تحديدا بما تحتويه من ميكروبات داعمة للحيوية في بداية القرن البائد (١٩٠٧) الا أنه ثبت حديثا جدا خلال السنوات القليلة الماضية بإن تلك المنتجات اللبنية المحتوية علي الميكروبات الداعمة للحيوية قد خفضت بصورة ملحوظة تحويل المواد المسرطنة الغير نشطة Precarcinogens الي مواد نشطة سرطانيا carcinogens عن طريق تخفيض نشاط الانزيمات المنشطه للمواد المسرطنه هذا فضلا عن تقليل الكوليسترول بالدم مما يقلل من احتمالات الاصابه بامراض القلب. كل هذه التأثيرات المفيدة الداعمة للحيوية جعلت كل المهتمين بها من عمل توليفات غذائية لبنية تحتوي علي تلك الميكروبات الداعمة للحيوية بما يندرج تحت اسم الأغذية الوظيفية functional foods او العلاجية Therapeutic food حتي وصلت الي ما يسمي بالأغذية الحيويه Bio-food او بمعني ادق واضح الأغذية الداعمة للحيوية Probiotic كل هذا التطور لمثل هذه الأغذية ودورها دفعنا لأن ندعم المكتبه العربية ببعض البنية الأساسية المعلوماتية في تطور تلك المنتجات الداعمة للحيوية بدأ من ظهورها وتعريفها وميكانيكية احداثها وصفاتها وتوليفاتها وتطور ظهورها وتعددها ومستقبل البحث فيها، حيث يقع هذا الجزء فى الباب الأول والثانى والذى أعده الدكتور طارق مراد النمر ثم اتبعنا ذلك تصورا بتكنولوجيا انتاجها حتي يقف المهتم بهذا المجال علي الحقائق الاساسية التي تؤهله للبحث فيها. ويقع هذا الجزء فى الباب الثالث والذى أعده الدكتور سامح على عوض.

والله ولي التوفيق

المؤلفان

الباب الأول

الــدعم الحيـــوى

Probiotic

الباب الأول

الدعم الحيوى Probiotic

١- المقدمة Introduction

مع ظهور البكتيريا المقاومة لفعل المضادات الحيوية والطرق الطبيعية لإخماد ومنع الأمراض ظهر الإتجاه الداعى إلى التدعيم الحيوى Probiotic. والدعم الحيوي هو استخدام الاجناس الميكروبية ليست فقط المنوطة بوقف أو تثبيط أو تقليل التخمرات غير الصحية فى أمعاء الإنسان وإنما المرتبطة أيضاً بتقديم آثار صحية عديدة من هدفها تحسين صحة الإنسان ومناعته ضد الأمراض.

يعتبر العالم متشينكوف Metchinkoff (١٩٠٧م) هو اول من لاحظ وجود علاقة بين تناول الألبان المتخمرة وفوائدها الصحية والأساس العلمي للنظرية التى وضعها متشينكوف هو ما يسمى بنظرية (التسمم الذاتى) حيث يقترح إن جسم الإنسان يتسمم ببطء ومقاومته للأمراض تصبح ضعيفة نظرا لفعل الميكروبات الضارة فى القناة الهضمية. ووجود الميكروبات النافعة مثل بكتريا حمض اللاكتيك تعمل على تثبيط نمو تلك الميكروبات الضارة، و قد نال متشينكوف Metchinkoff جائزة نوبل علي تلك الأبحاث. وهناك بصفة عامة إجماع بين العلماء على إن صحة الإنسان وحيويته ترتبط بدرجة كبيرة بما تحتويه الأمعاء من ميكروبات مفيدة و وجود بعض الميكروبات مثل الـ *Lactobacilli* و *Bifidobacteria* ضروري للحياة السليمة والصحية للإنسان وإذا حدث واختل توازن هذه المجموعة المفيدة من البكتريا أو قل عددها فيجب تلافى الخلل عن طريق تقديم وجبات غذائية تحتوى على العدد المناسب والنوع المرغوب فيه.

وعلى الرغم من أن هذا الإتجاه بدأ منذ ١٩٠٧م على يد ميتشنكوف (Metchinkoff 1907) إلا ان إصطلاح الدعم الحيوى Probiotic قد تم تعريفه على يد (Lilly and Stillwell 1965) وذلك بوصفها على انها (تلك المواد التى يتم إنتاجها بواسطة ميكروب معين والتى من شأنها تنشيط نمو ميكروبات اخرى).

ومنذ ذلك الحين وإصطلاح Probiotic يعرف بطرق عديدة قد يعتمد بعضها على فهم ميكانيكية تأثيرها الصحى وتأثيرها على الإنسان. ومن التعريفات العامة الشائعة المستخدمة لوصف الدعم الحيوى Probiotic ما إقترحه (Fuller1989) بأن الدعم الحيوى هو (التدعيم الغذائى بواسطة الميكروبات الحية ذات التأثير الصحى على العائل والتى من شأنها إحداث أو تحسين التوازن الميكروبى فيه). ولقد إمتد هذا التعريف ليشمل الإستخدام الغذائى وغير الغذائى وكذلك إستخدام مزارع ميكروبية أحادية أو مختلطة (Havenaar and Huis, 1992). ولقد اقترح الأوربيون بأن يضاف للتعريف أيضا ميكانيكية تأثير تلك الميكروبات الداعمة حيويا (Salminen et al., 1998).

الأبحاث الحديثة تؤكد على استخدام الكائنات الدقيقة المفيدة للإنسان وخاصة بكتريا حمض اللاكتيك مثل ال *Lactobacilli* و*Bifidobacteria* وذلك لتجنب الحالات المرضية و منع اضطراب الأمعاء عن طريق السيطرة الطبية واستعمال وسائل طبيعية لحماية الصحة كعلاج طويل الأمد. وميكروبات حمض اللاكتيك هى معروفة فى الغالب لاستعمالها الواسع الانتشار فى تحضير الأطعمة المتخمرة ومنتجات الطعام لتحسين الطعم والقوام وزيادة مدة حفظ الأغذية والمحافظة على الصحة.

الأبحاث الخاصة بالدعم الحيوى Probiotic كانت محدودة فى الثلاثينات من القرن الماضي وكانت المنفعة الصحية لتلك الميكروبات غير معروفة بشكل واسع أما اليوم فأبحاث الدعم الحيوى Probiotic كثيرة جدا و قد استخدمت على النطاق الصناعي وقد زاد استهلاكها لأهميتها الصحية العالية.

التأثيرات المفيدة لبكتريا حمض اللاكتيك للإنسان والحيوان قد تم بحثها مبكرا منذ قرن مضى للعالم ميتشنكوف Metchnikoff كما سبق ذكره والذى اقترح أن الحياة طويلة الأمد لفلاحين بلغاريا يرجع إلى استهلاكهم ألبان متخمرة أو منتجاتها وكان لاستخدام البكتريا *lactobacillus* تأثير إيجابي مع الكائنات الطبيعية للأمعاء حيث تعمل على خفض أعداد البكتريا الممرضة.

ولعل من اشهر وغالبية الميكروبات المحدثة للإتزان الميكروبى معوياً كما اقترح (Playne 1994) هى :

Lactobacillus acidophilus, Lb. casei, Bifidobacterium bifidum , Bif. longum and Saccharomyces boulardii.

ويوضح جدول (١) اهم بكتريا حمض اللاكتيك الداعمة حيوياً والتى يعزى إليها هذا التأثير سواء استخدمت بصورة فردية أو فى صورة توليفات منها.

جدول (١): أمثلة لأهم بكتيريا حمض اللاكتيك الداعمة حيوياً للإستهلاك الآدمى.

Lactobacilli	Bifidobacteria	Streptococci	Enterococci
Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus	*Bif. bifidum*	*Str. thermophilus*	*Ent. faecalis*
			Ent. faecium
Lb. acidophilus	*Bif. longum*		
Lb. rhamnosus	*Bif.breve*		
Lb. reuteri	*Bif. infantis*		
Lb. casei			

المصدر (L.J. Fooks, 1999)

وإذا كانت الأبحاث قد ركزت وإهتمت منذ الثمانينات بصفة أساسية على جنس ***Lactobacillus*** وخاصة النوع ***acidophilus*** حسبما اقترح كل من (Friend and Shahani, 1984; Fernandes et al., 1987 and Renner, 1986) إلا أنه موخراً تم الإهتمام بهذه الأجناس بصورة أكبر ومنذ آخر الثمانينات فقط تم الإهتمام بصورة كبيرة باستخدام جنس *Bifidobacterium* فى الغذاء لما لها من دور مهم جداً فى إحداث بعضاً من التأثيرات الداعمة للحيوية probiotic action وهذه سيتم إيضاحها بإيجاز فيما يلى.

٢- التأثيرات الداعمة للحيوية Probiotic effects

يمكن تلخيص التأثيرات الداعمة للحيوية فى النقاط التالية:

٢-١- التغلب على ضعف إمتصاص اللاكتوز Lactose malabsorption

ينشأ ضعف إمتصاص وهضم اللاكتوز لإنخفاض او ضعف أو فقد النشاط الإنزيمى المختص بهضم سكر اللاكتوز Lactase system (β-galactosidase) فى القناة الهضمية للإنسان مما يسبب الإضطرابات المعوية والإسهال. وقد يربو على نصف سكان العالم غير قادرين على الهضم والإمتصاص الأمثل للاكتوز. ولعله من المعروف ان متبقيات اللاكتوز فى الألبان المتخمرة يمكنها ان تحفز السلالات الميكروبية الداعمة للحيوية لإنتاج إنزيمات الـ β-galactosidase كما انها تقلل من ظاهرة الحساسية للاكتوز (Savaino et al., 1984).

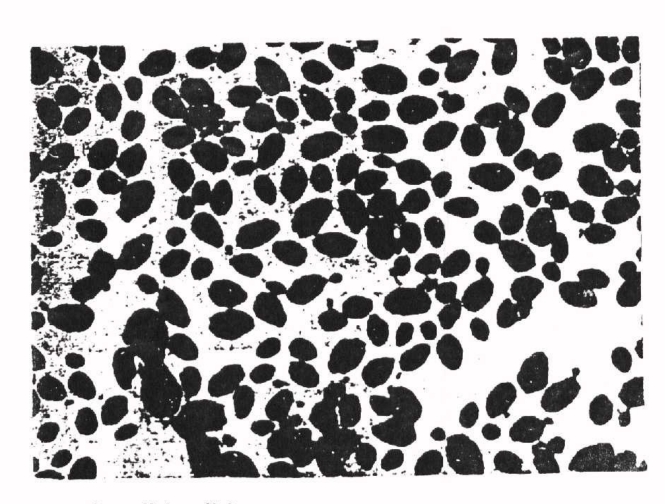
٢-٢- التضاد مع التلوث المعوى Intestinal infections

لقد إهتم الباحثون بصورة كبيرة باستخدام التدعيم الحيوى Probiotic سعيا وراء الحد أو إيقاف التلوث المعوى (*Gibson et al., 1997*)، ولعل ظهور اعراض الإسهال المصاحب لإستخدام المضادات الحيوية Antibiotics Associated Diarrhoea (AAD) هى من أهم النقاط البحثية التى تتطلب دعما حيويا لعلاجه، خاصة إذا ماتم ملاحظة ان كفاءة إستخدام الخمائر مثل *Saccharomyces boulardii* فى توليفات مع المضادات الحيوية مقارنة بإستخدام المضادات الحيوية بمفردها اعطت مؤشرا جيدا لوقف حدوث الإسهال المصاحب لإستخدام المضادات الحيوية (AAD) (Adams et al., 1997) ولقد تم تاكيد تلك الظاهرة بحثيا بواسطة Surawicz et al.(1989) and McFarland et al.(1995). وعلى نحو آخر اظهرت تلك الخميرة عند إستخدامها مع المضادات الحيوية تفوقا ملحوظا تجاه معالجة او وقف نشاط ميكروب *Clostridium difficile* مقارنة ايضا بإستخدام المضادات الحيوية بمفردها (McFarland et al., 1994). هذا ولقد اثبتت التجارب البحثية بأن تناول

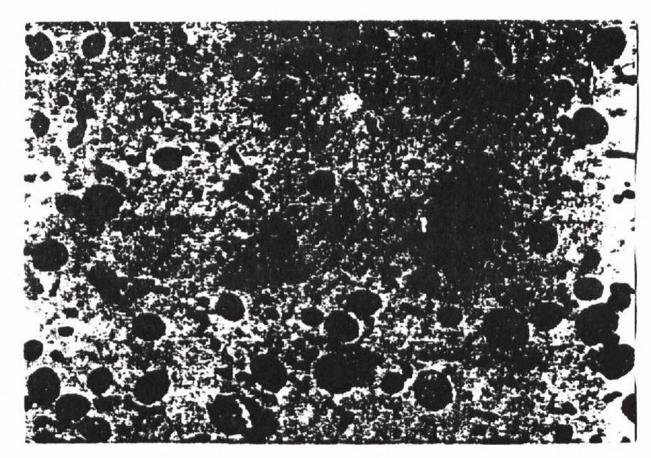
الألبان المحتوية على .Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium spp كانت طريقة فعالة جداً لوقف العديد من أنشطة التلوث الميكروبى مثل التلوث بالـ Candida (Tomoda et al., 1983) (شكل ١) واثرت بصورة واضحة ايضا على ظاهرة الإسهال المصاحب للمضادات الحيويه (AAD)

(Colombel et al., 1987; Saavedra et al., 1994 and Nugent, 1999).

ويجب التنويه إلى أن ميكانيكية الحماية المقترحة بواسطة تلك السلالات الميكروبية الداعمة حيوياً وطرقها المختلفة لم تكتمل حتى الآن، ولكن ماهو معروف عنها حتى الآن من طرق لإحداث الدعم الحيوى هى إفرازها لمواد مضادة ميكروبية Antimicrobial substances وإخماد تكوين السموم Toxins فى مواقع تكوينها والحث على زيادة المناعة وإضعاف التسمم وكذلك خفض الـ pH فى القناة الهضمية وإغلاق مواقع الإلتصاق للميكروب المرضى (Fooks et al., 1999).



شكل (١): صورة فوتوغرافية توضح سيادة الخميرة ***Candida albicans*** والتثبيط التام للبفيدو بكتيريا فى أمعاء طفل بعد علاجه بالبنسلين لمدة ٧ أيام



شكل (اب): صورة فوتوغرافية للميكروبات فى أمعاء طفل بعد ٣ أيام من إنتهاء جرعة البنسلين وتناوله لبن يحتوى على البفيدو بكتيريا



شكل (اجـ): صورة فوتوغرافية للميكروبات فى أمعاء طفل بعد ٧ أيام من إنتهاء جرعة البنسلين وتناوله لبن يحتوى على البفيدوبكتيريا

المصدر: الأغذيه المتخمرة وعلاقتها بصحة الإنسان (بريشة وشوقى ٢٠٠١)

٢-٣- ضعف وإخماد السرطانات Suppression of cancer

إذا كانت الأبحاث قد اقترحت أن زيادة إستهلاك الدهون المشبعة تزيد من إحتمالات حدوث سرطان القولون فإنه أيضاً من المؤكد عدم ثبوت نجاح التجارب بصفة قاطعة عند إستخدام تجارب الدعم الحيوى تجاه السرطان على مستوى الإنسان، لكن بعض التجارب البحثية التى أجريت على الحيوان بتقديم وجبات غذائية لها تحتوى على مزارع ميكروبية من *Bifidobacterium longum* عملت على إخماد وعدم تطور تكوين المواد المسئولة عن سرطان القولون (Kulkarni and Reddy, 1994). ولقد تم تأكيد هذا النهج فى تجربة أخرى بإستخدام سلالة من *Bif. longum* بالإضافة إلى الأنيولين حيث خفضت من إحتمالات الإصابة بالسرطان (Rowland et al., 1998). وإذا كان من المعروف أن الإنزيمات البكتيرية المنوطة بتحويل المواد المسرطنة غير النشطة الأولية Precarcinogens إلى مواد نشطة سرطانيا Carcinogenes بطريقة معينة لم تتضح بصورة كاملة إلى وقتنا هذا، ولكن من الثابت أن إستخدام *Bifidobacterium spp.* و *Lb. acidophilus* قللت بوضوح نشاط الإنزيمات المنشطة للمواد المسرطنة الأولية مثل β-glucuronidase و Nitroreductase وأيضا Azoreductase (Goldin and Gorbach, 1984).

٢-٤- الإقلال من أمراض القلب المميتة Coronary heart disease

من المعروف أن هناك علاقة مابين مستويات الكوليسترول فى البلازما وحدوث أزمات القلب المميتة رغم أن هذه العلاقة لم تتضح معالمها بصورة واضحة. وعليه فعند قياس مستويات L.D.L cholesterol التى قد تكون مؤشراً لمثل تلك الأمراض، فلقد وجد (Schaafsma et al.1998) أن التغذية اليومية بمعدل ١٢٥ مل من لبن داعم للحيوية Probiotic milk عمل على تقليل الكوليسترول من النوع L.D.L فى السيرم وكذلك كوليسترول السيرم الكلى، هذه الحقيقة تأكيداً لما أجرى من أبحاث بواسطة كل من

Gilliland et al.(1985), Agerback et al.(1995) and Pereira and Gibson (2002).

٢-٥- المساعدة على الهضم Digestive aid

من المؤكد ان الأغذية الداعمة حيويا Probiotic تساعد فى هضم مكونات الغذاء وهى ترجع بصفة أساسية إلى معدلات تواجد السلالات الميكروبية فى الغذاء نفسه Viability وقدرتها على تحليل البروتين والدهن إنزيميا.

٢-٦- التأثير الغذائى Nutritional effects

المحتوى الغذائى للألبان المتخمرة مختلف لحد ما عن اللبن الخام المصنع منه (Anon, 1997) حيث ان عمليات التخمر تسبب عمليات التحلل البروتينى مما يزيد حيوية البروتين او مقدرته على الهضم Protein availability.

٢-٧- الحث المناعى Immune stimulation

وهذه تعد واحد من أمتع وأكثر المواضيع تشويقا لفعل الأغذية الداعمة حيويا تجاه الحث المناعى. ففى تجربة اجريت على الإنسان Human trial حيث تم تغذية ٢٤ حالة على ٤٥٠ جرام من الزبادى يوميا لمدة ٤ شهور اظهرت نتائجها زيادة معنوية فى إنتاج المركب المناعى y-interferon (Halpern et al., 1991). مما سيشجع البحث العلمى مستقبلاً على إيجاد العلاقة المناعية ومركباتها المختلفة بالدعم الحيوى.

٣- أهم الصفات للسلالات الداعمة حيوياً

Properties of probiotic Strains

إشترطت العديد من المراجع العلمية لكى تعتبر اى سلالة ميكروبية سلالة داعمة للحيوية لا يكفى انها تحدث الأثر الحيوى Probiotic effect، لكن المهم هو وصول نسبة كبيرة من الميكروبات الداعمة حيوياً إلى أماكن تواجدها فى الأمعاء حتى يمكنها إحداث التوازن الحيوى بمعنى أن تكون الغلبة لتلك السلالات المفيدة على حساب غير المرغوبة (Sander, 1998; Tannock, 1998 and Ouwehand et al., 1999). لذا فانتخاب تلك السلالات لإحداث ذلك الأثر سيلزم تحمل الظروف الصعبة خلال المرور بالقناة الهضمية حتى تصل إلى الأمعاء الغليظة وتلتصق بها وبالتالى الحد من تواجد

الميكروبات المرضة. وحسبما جاءت بالمراجع السابقة فإن العوامل التالية هى المحددة لمدى إحداث تلك السلالات للأثر الداعم الحيوى وهى:

٣-١- تحمل الحموضة العالية

الحموضة العالية فى المعدة تعتبر هى العائق الأول لمرور الكائنات الحية الدقيقة فى المعدة والفعل التثبيطي يعود أساسا إلى التركيز العالى لحامض الهيدروكلوريك HCl ولذلك فإن تحمل الحموضة هى أحد الأسس التى يتم عليها اختيار البكتريا المفيدة او ما يسمى ال Probiotic bacteria حيث انه من المهم ان تبقى البكتريا حية Remain viable خلال مرورها فى القناة الهضمية حيث انه فى الحقيقة القليل من البكتريا النافعة التى تبقى على قيد الحياة بعد أن تمر فى المعدة و الأمعاء الدقيقة ليصل إلى الأمعاء الغليظة ومن أمثلة هذه الميكروبات الأنواع التابعة لجنس الـ *Bifidobacterium* مثل: *Bifidobacterium angulatum, Bifidobacterium bifidum, B. brevei B.adalescentis, B. longum* وأيضا بعض الأنواع التابعة للجنس *Lactobacillus* مثل *Lb. reuteri, Lb.gasseri, Lb. johnsonii, Lb. ehamnosus strain GG, Lb. plantarum 299* والخميرة *Saccharomyces boulardii* ومن المهم ان تبقى ولو نسبة بسيطة من بكتريا الـ *Streptococci, lactobacilli and Bifidobacterium* حية بعد تعرضها لكل من الحموضة العالية فى المعدة والظروف الصعبة فى الأمعاء الدقيقة من أحماض صفراء وعصارات هاضمة. وزيادة إعداد هذه البكتريا عن طريق تناول الأغذية المتخمرة يؤدى إلى زيادة أعداد البكتريا الحية والتى تقاوم الظروف الصعبة. وطبعا يوجد هناك اختلاف بين السلالات فى درجة تحملها لتلك الظروف الصعبة والتى أهمها انخفاض رقم الحموضه pH. ووقت المرور الذى يستغرقه الغذاء المتخمر والمهضوم جزئيا بما يحمله من ميكروبات يكون اقل من وقت مرور الغذاء غير المتخمر ولذلك فان الأغذية المتخمرة يؤدى إلي وصول عدد من الميكروبات إلى الأمعاء اكبر منه فى حاله تناول أغذية غير متخمرة.

٣-٢- تحمل العصارات والإنزيمات الهاضمة ونواتج الهضم

بعد مرور البكتريا من المعدة إلى تجويف الأمعاء فإنها تتعرض لكل من العصارات الهاضمة، نواتج تمثيل بعض المركبات، الإنزيمات الهاضمة مثل أنزيم الليزوزيم الذى تفرزه بعض البكتريات والتى يستطيع تحلل جدر الخلايا الميكروبية، الأجسام المضادة، كل هذه المثبطات تتعرض لها البكتريا قبل أن تلتصق بالغشاء المخاطي للأمعاء الدقيقة أو الغليظة بعد نجاحها فى البقاء حية خلال تلك الرحلة الشاقة والظروف غاية الصعوبة ومن ثم فلابد لبكتريا الدعم الحيوى Probiotic bacteria أن تكون لديها المقدرة العالية على تحمل تلك الظروف بحيث تبقى حية ولو بنسبة بسيطة دون أن تموت.

٣-٣- تحمل المضادات الحيوية

يوجد العديد من المضادات الحيوية التى تفرزها البكتريا المعوية ولذلك فأن وجود المضادات الحيوية يتحكم فى بقاء البكتريا المضافة إلى الغذاء حية حتى تقوم بدورها ولذلك فمن الضروري أن تجرى اختبارات للتأكد من مقاومة الميكروب المراد اضافته للغذاء للمضادات الحيوية المحتمل وجودها فى التجويف المعوي وكذلك من المهم دراسة تأثير جميع المواد المثبطة المحتمل وجودها فى القناة الهضمية على حيوية البكتريا المراد استخدامها وذلك عن طريق تحليل البراز قبل وأثناء وبعد تناول ميكروبات الدعم الحيوى Probiotic.

٣-٤- تحمل أملاح الصفراء

إن إفراز أحماض الصفراء تلعب دورا هاما فى تحديد عدد وأنواع البكتريا التى تصل إلى باقى أجزاء الأمعاء الدقيقة و من ثم إلى القولون. وكما هو معلوم إن نسبة أحماض الصفراء فى الغذاء تتأثر بنسبة الدهن فى الغذاء. والأحماض الدهنية ربما تزيد من درجة التأثيرات المثبطة لأحماض الصفراء ضد البكتريا المفيدة أو العلاجية Therapeutic bacteria مثل الـ lactobacilli, bifidobacteria وهذه البكتريا العلاجية يجب أن تبقى حية بعد تعرضها لتركيزات عالية من أحماض الصفراء ومعظم سلالات البكتريا التابعة للـ lactobacilli, bifidobacteria لها القدرة على تكسير

املاح الصفراء إلى احماض صفراء حرة و التى تكون لها قدرة تثبيط البكتريا أعلى من الصورة المرتبطة أي أملاح الصفراء.

٣-٥- القدرة على إنتاج الأحماض الدهنية الطيارة

Ability to produce volatile acids

انه من المعروف مقدرة البكتريا النافعة على إنتاج أحماض دهنية طيارة، حيث ان الأحماض العضوية المتكونة تثبط نمو العديد من البكتريا الغير مرغوب فيها. و الأحماض العضوية الحرة يكون لها تأثير مباشر ضد العديد من الميكروبات المرضية. حيث تنتج بعض السلالات من lactobacilli, bifidobacteria حامض الخليك بكمية اكبر من حامض اللاكتيك وكذلك نسبة بسيطة من حمض الفورميك وتلك الأحماض تعمل على تثبيط نمو بكتريا الـ *E. coli*

٣-٦- أن تكون آمنة وليس لتناولها آثار جانبية ولا تؤثر على نفاذية الأمعاء

تستخدم الآن الميكروبات العلاجية فى الصناعات الدوائية والصناعات الغذائية وفى هذه الحالة يجب التأكد من إن استخدام هذه الميكروبات ليس لها أي تأثيرات جانبية والا تنتج أي مكونات ضارة. وهناك شرط هام وأساسي فى البكتيريا أو فى الميكروبات العلاجية أنها لا تزيد من نفاذية الأمعاء لأن نفاذية الأمعاء هى التى تسبب الالتهابات فى منطقة الأمعاء . وتعتبر بكتريا حمض اللاكتيك لها خصائص جيدة فى هذا المجال.

٣-٧- الالتصاق بالغشاء المخاطي للأمعاء

ولكي تقوم الميكروبات المفيدة أو العلاجية بدورها فى حماية سطح الأغشية المخاطية فى الأمعاء الدقيقة من الميكروبات المرضة فهي أما أن تكون ملتصقة بالفعل بالخلايا الطلائية فى الأمعاء، أو أن يتم تناولها بصفة مستمرة ودورية حتى نضمن تواجدها فى الأمعاء لتبقى مرتبطة ومتواجدة بالخلايا الطلائيه ولذلك فإنه بعد المرور من الجزء العلوي من الأمعاء الدقيقة فان البكتريا المفيدة يجب أن تكون لها القدرة على الالتصاق بالخلايا الطلائية حتى ولو وقتيا وذلك لتجنب إزالتها من الأمعاء. وهناك الكثير من الدراسات التى اكدت أن احدى وسائل التأثير الواقي للميكروبات العلاجية فى الأمعاء الدقيقة تتم بطريقة الالتصاق القوى لان هذا معناه حدوث تداخل مباشر بينها وبين اماكن التصاق البكتريا المرضة. ولذلك فان بكتريا حامض اللاكتيك والتى لها

القدرة الكبيرة على الالتصاق بجدر الخلايا الطلائية للأمعاء يكون لها تأثير واقي فى الأمعاء ضد الميكروبات المرضة افضل من البكتيريا غير القادرة على الالتصاق. ويفضل السلالات المنتجة للسكريات العديدة لأنها تلتصق افضل بجدار الأمعاء كما أنها تزيد من لزوجة المنتج الذى تستخدم فى تصنيعه وهى إحدى الصفات التصنيعية المرغوبة خاصة عند استخدام ال Bifidobacteria فى صناعة الألبان المتخمرة والجبن القريش والزبادي المجمد.

٣-٨-القدرة على الاحتفاظ بحيويتها فى الغذاء الذى يستخدم كحامل Carrier

نوع الغذاء الحامل للبكتريا العلاجية يؤثر على معدل بقاؤها حية وذلك قبل الاستهلاك. ولذلك يجب التأكد أن مكونات الغذاء ليس لها تأثير سلبي على نمو وحيوية هذه الكائنات. ولذلك فمن المفضل عند استخدام سلالات معينة من ال lactobacilli, bifidobacteria لأجل صفاتها الوقائية والعلاجية ان تكون محتوى الغذاء منها لا يقل عن $١٠^{٨}$ لكل مل وذلك بعد الإنتاج مباشر بحيث يكون العدد بعد التخزين والتداول وعند الاستهلاك يتراوح بين $١٠^{٥}$ - $١٠^{٧}$ لكل مل. وهذا يجعل البكتريا تصل إلى الأمعاء الغليظة وهى فى صورة حية ونشطة وربما تستطيع أن تنمو وتتضاعف وذلك قبل أن تخرج مع البراز.

٣-٩- القدرة على تنبيه وتنشيط الجهاز المناعي

بالإضافة إلى أن وظائف وتركيب الأمعاء الدقيقة تتأثر بما تحتويه من ميكروبات فأن وجود هذه الميكروبات يؤثر على الجهاز المناعي للجسم حيث إنها تنتج ما يسمى بعوامل المقاومة. ومن الطبيعي أن يكون هناك علاقة تعاون بين الميكروبات الطبيعية وبين الجهاز المناعي للعائل وهذه العلاقة تحمى الميكروبات الطبيعية من مهاجمة الميكروبات المرضة. ونظرا للحركة الدودية السريعة فى الأمعاء الدقيقة فان التأثير الواقي للميكروبات المفيدة قد يتطلب أحيانا أن تقوم البكتريا المفيدة بتنبيه وتنشيط الجهاز المناعي حتى تحدث استجابة سريعة للقضاء على الميكروبات المرضة.

٣-١٠- صفات أخرى متنوعة

هناك صفات أخرى عديدة يجب أن تتصف بها بكتريا الدعم الحيوى probiotic المستخدمة فى الأغذية العلاجية أو الأغذية الصحية أو الأغذية الوظيفية. ومن هذه الصفات صفة التخصص بمعنى أن تكون معزولة من أمعاء إنسان سليم و يفضل الأطفال الرضع. والحقيقة أن جميع السلالات المعزولة الآن من اصل إنساني. كما يجب أن تكون الميكروبات المستخدمة لها درجة عالية من الانسجام والتآلف مع العائل وتتعايش مع السلالات الأخرى الموجودة فى الأمعاء كما يكون لها القدرة على تكسير الأنزيمات التى تعمل على تكوين المركبات السرطانية وكما يجب أن يكون لها تأثير جيد على الصفات الحسية للغذاء وأن تكون ثابتة أثناء عمليات التصنيع المختلفة.

وتلخيصاً لما سبق يتم الاهتمام بحثياً فى هذا المجال على:

١- القدرة على البقاء فى الظروف الحمضية للمعدة بمعدل عالٍ.

٢- القدرة على مواجهة العصارات الهاضمة (ومن أهمها الإنزيمات المحللة لجدر الخلايا مثل الـ Lysozyme وكذلك الأجسام المضادة) ونواتج هضم الغذاء الذى قد يكون مثبطاً لها مثل الفينولات.

٣- القدرة على تحمل المضادات الحيوية أو مضادات النمو المفرزة طبيعياً من الميكروبات المراد مقاومتها.

٤- حساسية تلك السلالات تجاه أملاح الصفراء للإثنى عشر حيث يجب أن تتحملها وتعمل على تحللها إلى أحماض صفراء حرة.

٥- إنتاجيتها للأحماض العضوية ذو التأثير السام تجاه البكتيريا الممرضة مثل حمض الخليك واللاكتيك، وإن كان الخليك أكثر تميزاً فى تضاد الميكروبات الممرضة.

٦- أن يكون لها معدل إلتصاق وتجاذب عالى Adhered مع الخلايا الطلائية فى الأمعاء بواسطة مستقبلات لدى الخلايا وجدر الخلايا الطلائية ومن ثم حدوث التأثير المضاد للميكروبات الممرضة.

٧- المقدرة على التواجد بكفاءة حيوية عالية، حيث يجب أن يتم تواجد تلك السلالات كما سبق ذكره بعدد لايقل $١٠^٥$ - $١٠^٧$ خلية حية لكل مل وهذا يتأتى بإستمرارية تناول تلك الأغذية الحاملة لتلك السلالات.

٨- الحث المناعى العالى من أهم صفات تلك السلالات حيث أن الحث المناعى للجهاز المناعى مرتبط بتكوين او زيادة تواجد المركبات المناعية مثل Globuline لإحداث مايسمى بالإستجابة المناعية Immune response للقضاء على البكتيريا المرضة.

٩- أن تكون أصول تلك السلالات من طرز إنسانية لها قدرة التأقلم مع الجسم.

(McNaught and MacFie, 2001 and Zubillage et al., 2001)

٤- ميكانيكية الفعل الداعم للحيوية

Mechanism of probiotic action

إن عملية التأثير نفسها وميكانيكية الفعل الداعم للحيوية لإحداث التأثيرات السابق الإشارة إليها غير مكتملة الصورة حتى الآن، ولكن هناك عدداً من النقاط أو الآليات المفسرة للفعل الداعم للحيوية بصفة عامة وهى موجزة كمايلى:

٤-١ التأثير الحيوى Biochemical effects

هناك ميكانيكية واحدة لتلك الميكروبات الداعمة للحيوية فى إحداث التأثير الحيوى وهى انها تثبط أو توقف الميكروبات المرضة بإنتاج مايعرف بإسم البكتيريوسين Bacteriocins (Meghrous et al., 1990). ولقد إقترح (Gibson and Wang 1994) ان بعض سلالات الـ Bifidobacteria تثبط انواع مختلفة من البكتيريا المرضة ولا يرجع ذلك لتأثير الـ pH، حيث وجد انه تحديداً *Bifidobacterium bifidum* انتجت انواع من البكتريوسين المثبطة للـ *Listeria* و *Enterococcus* و *Bacillus* (Anand et al.,1984) . كما اثبتت الدراسة التى قام بها (Kheadr et al.2002) أن عينات اللبن الزبادى المحتوى على سلالة من الـ *Bifidobacterium bifidum* ثبطت كل من البكتريات المرضة التابعة لـ *Pseudomonas aeroginosa* و *Staph. aureus* و *E. coli* و *Bacillus subtilis*

فـي حـين أن خلـيط مـن الــ *Bif. bifidum* و *Bif. longum* ثبطـت كـل مـن *Staph. aureus* و *Bacillus subtilis*.

أيضاً تجدر الإشارة إلى أن الأحماض الدهنيـة قصـيرة السلسلة والتـى يـتم إنتاجها بكميات متفاوتة خلال التفاعلات الحيوية النهائية للبكتيريا الداعمـة حيويـاً قـد تعمـل على الحث على الفعل المقاوم Antagonistic effect تجاه الميكروبات المرضـة. كمـا أن إقلال درجات الحموضة pH خلال القناة الهضمية ربما تعمل على تثبيط نمـو البكتيريـا المرضة (Fooks, 1999).

٤-٢ التنافس على العناصر الغذائية Competition for nutrients

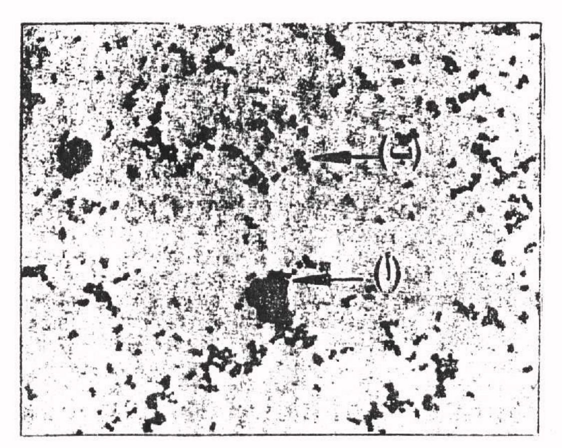
الأنواع من البكتيريا الداعمة حيوياً لها إحتياجات من العناصر الغذائيـة اللازمـة لنموها. ولعل من المفيد أن تلك الإحتياجـات كـبيرة بالمقارنـة بـأنواع البكتيريـا الأخـرى، هذا التداخل التنافسى على المحتويات الغذائية يحسن من الفعل الحيـوى لتلـك البكتيريـا للحيلولة ضد نمو الأنواع الأخرى المرضة.

٤-٣- التأثير المناعى Immune effects

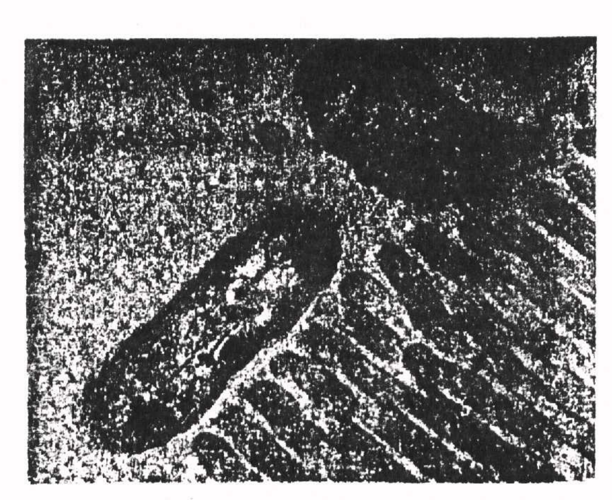
أهمية الفعل المناعى والتحكم فى نمو الميكروبات فى القناة الهضمية من مسلمات التأثير الداعم للحيوية من خلال التأثير الداعم للحيوية من خلال التأثير علـى الأجهـزة المناعية نفسها (Arunachalam and Gill, 2000).

٤-٤- الإلتصاق والتجاذب Colonisation

حتى يتم الإستفادة من الفعل الداعم للحيويـة فلابـد أن تكـون معـدلات إلتصـاق تلك السلالات الداعمة للحيوية بصورة تضمن حـدوث ذلك الفعـل كمـا يوضـح شـكل (٢). ولقد أقترح أنه لحدوث الفعل الداعم للحيوية والفعل العلاجى يجب أن تكون أقـل عـدد مـن تواجـد تلـك السلالات $١٠^{٥}$ - $١٠^{٦}$ خليـة حيـة/ جـرام مـن الغـذاء لحـدوث ذلـك الفعـل الحيوى (Blanchette et al., 1996).



شكل (٢) أ: الفرق بين الخلايا الملتصقة (أ) وغير ملتصقة (ب) للبيفيدوباكتيريا بالخلايا الطلائية لأمعاء الغنم



شكل (٢) ا: إلتصاق البكتيريا المسببة للكوليرا **Vibrio cholera** بالخلايا الطلائية للأرنب (قوة التكبير ٥٧٧٠٠ مرة).

المصدر: الأغذية المتخمرة وعلاقتها بصحة الإنسان (بريشة وشوقى، ٢٠٠١)

٥- المواد المنشطة للفعل الداعم للحيوية أو محفزاتها Prebiotics

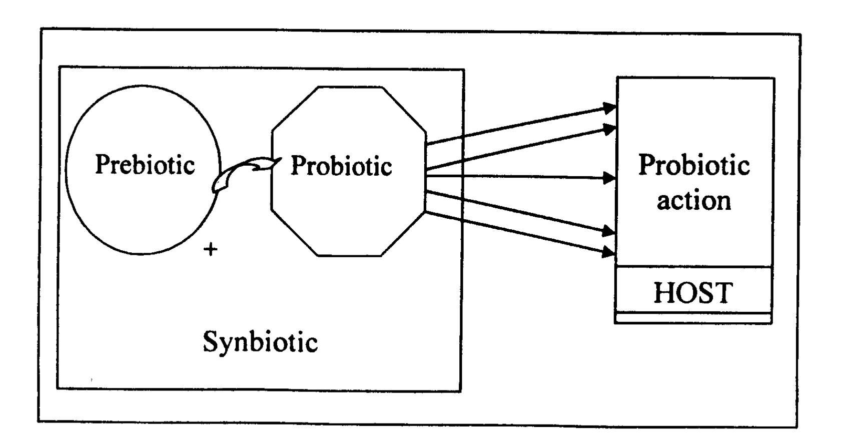
إن حيوية الخلايا البكتيرية فى الأغذية والتى تعمل على الدعم الحيوى فى القناة الهضمية تكون متفاوتة لذلك فالمواد المنشطة أو المحفزة للنشاط الحيوى تعرف بالـ (Prebiotics) وهى من الإتجاهات البحثية المطروحة حاليا لزيادة الفعل الداعم للحيوية. وعليه فلقد عرف (Gibson and Roberfroid 1995) المدعمات الحيوية Prebiotics بأنها (المكونات الغذائية غير القابلة للهضم والتى تؤثر إيجابيا على حث العائل المحتوى السلالات الميكروبية الداعمة حيويا على تنشيط تلك السلالات فى القولون والتى من شأنها تحسين صحة العائل نفسه). ويشترط فى تلك المواد المدعمة للحيوية Prebiotics ان تتحلل قبل إمتصاصها فى الجزء العلوى من القناة الهضمية، كما يكون لها قدرة على أن تتخمر إختيارياً بالبكتيريا المتواجدة بالقولون وان يكون لها تأثير صحى على خلايا العائل نفسه.

ومن أشهر المواد التى أظهرت القدرة على انها Prebiotics هى Fructooligosaccharides (FOS) وهى تتكون من β-D-fructose المحتوية على درجات مختلفة من طول السلسلة Polymerization. كما ان هناك مجاميع اخرى تتدرج تحت Prebiotics وهى تشمل Glucooligosaccharides، Galactooligosaccharides، Transgalactooligosaccharides، Isomaltooligosaccharides (Gibson et al., 1999 and Alander et al., 2001).

وهناك نوع آخر من اشهر الـ Prebiotics وهو الأنيولين Inulin type fructans خاصة وان المقدرة على تخمر الأنيولين من قبل *Bifidobacterium* كانت ملاحظة دون السكريات الأخرى لذلك أصبح من السكريات التفريقية لجنس *Bifidobacterium* بحيث اصبح هناك مايسمى بـ Bifidogenic effect وهى قدرة تلك السلالة على تخمر مثل تلك السكريات (Gibson et al., 1995). وهذه الصفات أو النتائج قد تم تأكيدها خلال التجارب على الإنسان (Kleesen et al., 1997).

٦- توليفات المدعمات الحيوية ومحفزاتها Synbiotic

لقد إصطلح على ان Synbiotic هو الـ Probiotic بالإضافة إلى Prebiotic فى صورة توليفات منهم، حيث من المعروف أن الخلايا الداعمة حيويا يتم دعمها بمواد مقترنة بها دائما تكون تخصصية مثل Fructooligosaccharides (FOS) بالنسبة لسلالات *Bifidobacterium*. والمهم هنا ان منظومة Synbiotic يقوم فيها Prebiotic بتنشيط الفعل الحيوى للـ Probiotic. ولعل هذه المنظومة أن يكون لها تطبيقات خاصة بمجال الأطفال والرضاعة لهم فالتغذية على زجاجات من اللبن المحتوى على *Bifidobacterium* و (FOS) عملت على زيادة التأثير البيفيدى Bifidogenic والمحسن من زيادة اعداد Bifidobacteria. والشكل التخطيطى التالى قد يوضح الفرق بين Probiotic و Prebiotic و Synbiotic.



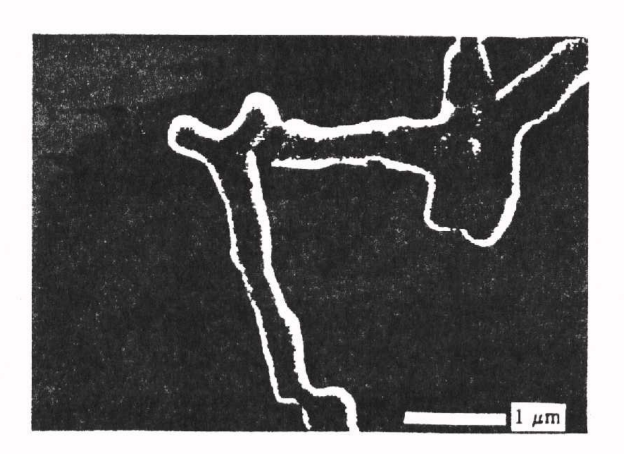
٧- البيفيدوباكتيريا Bifidobacteria

إذا كانت الإتجاهات البحثية إعتبرت الألبان المتخمرة ومنتجاتها من أشهر الأغذية دعما للحيوية لما لها من فوائد صحية جمة حسب ما أشار Antonie, 1997 وان تلك الإتجاهات البحثية قد ركزت سابقا على جنس *Lactobacillus* خاصة النوع *acidophilus* (Friend and Shahani, 1984; Renner, 1986 and Fernandes et al., 1987) لما لها من فوائد عديدة وتأثيرات داعمة للحيوية. إلا أنه فى نهاية الثمانينات إزداد الإتجاه خاصة فى شمال الولايات المتحدة الأمريكية لإستخدام جنس *Bifidobacterium spp.* فى الأغذية لما أظهرته تلك البكتيريا من تفوقا ملحوظا عن بقية الأجناس المحدثة للفعل الداعم حيويا.

والبيفيدوباكتيريا من أهم أجناس بكتيريا حمض اللاكتيك ذات الشكل العصوى الموجب لجرام غير مكونة للجراثيم غير متحركة لاهوائية تأخذ الشكل غير المنتظم كما يبينها الشكل رقم(٣).

ولقد تم عزل هذه البكتيريا على يد (Tissier 1899)، وفى عام ١٩٢٣ وفى الطبعة الأولى من تقسيم بيرجى للبكتيريا (Bergey et al., 1923) تم إطلاق إسم *Lactobacillus bifidus* فى حين إقترح (Orla-Jensen 1924) إسم *Bifidobacterium* ثم إعتمدت فى جنس منفصل خلال الطبعة الثامنة لتقسيم بيرجى على يد Buchanan and Gibbons (1974)، حيث وضعت ضمن أجناس عائلة Actinomycetaceae.

تلعب البيفيدوبكتيريا دوراً محورياً هائلا فى التحكم بالـ pH للأمعاء الغليظة حيث من شأنها إنتاج حمض الخليك وحمض اللاكتيك بنسبة ٣ : ٢ واللذان بدورهما يحدان من نمو العديد من البكتيريا المرضة (Rasic, 1983). وتختلف الطرز الإنسانية منها عن كل من البكتيريا المتجانسة ومختلطة التخمر فى أنها لاتخمر السكريات بطريقة Glycolysis او Hexose monophosphate pathway لكنها



شكل (٣): صورة الكترونيه لخلايا ***Bifidobacterium bifidum***

النامية فى بيئة **MRS broth**

Figure (3): Scanning electron micrograph of *Bifidobacterium bifidum* grown in modified MRS broth for 24h at 37C Bacteria appear as branched, Y-bifurcated rods. A typical characteristic of bifidobacteria.

تتميـــز بأنهـــا تحـــول الفركتـــوز-٦-فوسفـــات بواســـطة إنـــزيم Fructose-6-phosphate phosphoketolase (F6PRK) إلى حمض الأسيتك واللاكتيك وذلك كما هو موضح فى شكل (٤) (Scardovi and Trovatelli, 1965).
ودرجة حرارتها المثلى للنمو ٣٧-٤١°م أما حدود نموها تتراوح من ٢٥-٢٨°م حتى ٤٣-٤٥°م ، pH الأمثل للنمو ٦,٥-٧. ولقد ثبت أن للبيفيدوباكتيريا القدرة على إستخدام وتخمير بعض السكريات مثل Fructo and galactosyl-oligosaccharides لحد أنه يمكن إستخدام هذه السكريات كعوامل إنتخابية لها. فلقد إستخدم (Sonoike et. al.1986) بعضا من السكريات التابعة لـ Trans-galactosylated oligosaccharides فى بيئات إنتخابية حيث وجد ٢٢ سلالة من البيفيدوباكتيريا أنتجت مستعمرات متميزة فى حجمها فى حين أن أجناس مثل *Streptococcus* و *Lactobacillus* كانت غير قادرة على النمو على تلك السكريات كمصدر وحيد للسكر، لذا أقترحت مثل هذه البيئات لتمييز البيفيدوباكتيريا عن بقية الأجناس الميكروبية فى المنتجات اللبنية المتخمرة.

ومن أشهر أنواع جنس البيفيدوباكتيريا المستخدمة للدعم الحيوى فى الأغذية *bifidum; longum; breve; angulatum and adolescentis* ولتلك البكتيريا أسماء عدة خلال المجلات العلمية منها Probiotic ومنها AB culture حيث يدل A على تحمل الحمض Acid وهو الهيدروكلوريك HCl فى المعدة، أما B فتدل على أملاح الصفراء Bile وإذا إحتوت الأغذية على تلك السلالات فتطلق عليها إسماء متعددة منها Probiotic foods ، Functional food ، Bio-food ، Clinical food وكذلك Future-food.

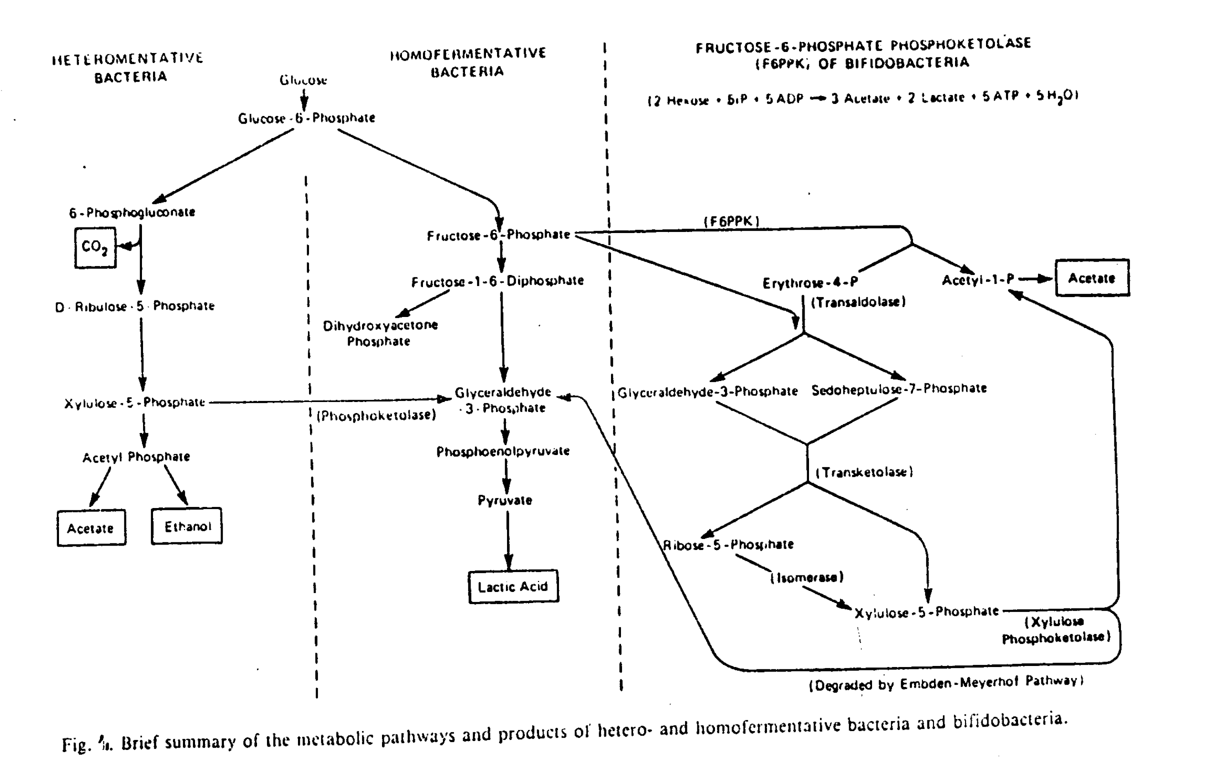


Fig. ٤. Brief summary of the metabolic pathways and products of hetero- and homofermentative bacteria and bifidobacteria.

شكل (٤): ملخص المسار الحيوى للبيفيدوباكتيريا والبكتيريا متجانسة التخمر.

ولعل شهرة وإتساع إستخدام البيفيدوباكتيريا عن الأجناس الأخرى هى مقدرتها على تحمل حموضة المعدة وإستيطانها الأمعاء الغليظة متحملة الظروف القاسية مثل أحماض الصفراء، أيضاً لها القدرة على إنتاج حمض الخليك واللاكتيك حيث معدل تثبيط الخليك للبكتيريا المرضة أكبر من الآخر.

ونظراً لأن البيفدوباكتيريا تحتاج لبعض من المواد المتخصصة المساعدة على النمو Bifidogenic factors وهى تشمل عدداً من الكربوهيدرات مثل N-acetylglucoseamine و Lactulose المتواجد فى لبن الأم. ولقد ركزت الأبحاث على عزل وتعريف تلك المواد المساعدة لنمو البيفيدوباكتيريا Bifidogenic factors من مصادرها الطبيعية مثل سرسوب الإنسان، تلك المواد أساساً سكريات امينية Amino sugars ولما كانت تلك المواد باهظة التكاليف مما يحول دون إستخدامها وتدعيمها على المستوى الإقتصادى لذلك إقترح (Yazaw and Tamura 1982) التركيز على السكريات المركبة Complex saccharides مثل الرافينوز والأنيولين و oligosaccharides Fructose و Lactulose لتدعيم وتنشيط نمو البيفيدوباكتيريا.

الباب الثانى

المنتجات اللبنية الداعمة للحيوية

Probiotic Dairy Products

الباب الثانى

المنتجات اللبنية الداعمة للحيوية
Probiotic Dairy Products

١ - تطور الأغذية اللبنية الداعمة للحيوية
Development of probiotic dairy products

نظراً لما تتمتع به الطرز البكتيرية الداعمة للحيوية من مميزات علاجية وصحية هائلة كما سردنا مسبقا وخاصة *Bifidobacterium* فلقد تصدرت اليابان ومجموعة من الدول الأوربية عملية تطوير وتشجيع إستخدام البيفيدوباكتيريا فى عديد من الأغذية (Hamilton et al., 1999). وايضا تصدرت اليابان دول العالم إنتاجا للمنتجات الغذائية بتلك السلالات الداعمة للحيوية وخاصة البيفيدوباكتيريا فلقد أنتجت مايربو على سبعين منتج أو مستحضر غذائى يحتوى البيفيدوباكتيريا، إحتلت منه المنتجات اللبنية خمسين منتجا والتى تشمل الألبان المتخمرة Cultured milk والمشروبات اللبنية ومنتجات الجبن واللبن المجفف والحلويات اللبنية والأغذية الصحية Health food (Kim, 1988 and Nagawa et al., 1988) وكذلك الأيس كريم (Lang and Lang, 1978). كانت تلك هى المحاولات الأولى لتدعيم منتجات الألبان بالدعم الحيوى وسوف نتناول هذا الموضوع لاحقاً.

ولعل السبب الحقيقى فى تطور تلك المنتجات هو أنه لما عرف فى بداية القرن السابع عشر، العلاقة الوثيقة بين ماناكل وبين الصحة وأن الوجبة الغذائية لابد أن تتحقق لها التوازن مابين إمداد الجسم بالعناصر الغذائية اللازمة له لتوفير الطاقة والبناء وبين ان تحقق له الأمان الحيوى أو الوقاية Preservation and food safety من الأمراض. ولعل ما اقترحه (Eddy 1986) بأن ثلث مسببات السرطان يكون راجعاً للوجبة الغذائية وهذا دليل قوى على الدور الحيوى الواقى للوجبة فى منع عديد من الأمراض بل والقدرة على التغلب على النقص فى الموارد الغذائية خاصة فى فترات النقاهة من الأمراض. ومن هنا ومع بزوغ اهمية الأمان والرقابة الحيوية للأغذية Preservation and food safety

شجعت على تطوير الأغذيـة لمثل هذا الهدف وهى ماعرفت بإسم Functional food خاصة على المستوى الداعم للحيوية Probiotic. وتعتبر الأغذية الداعمة للحيوية Probiotic foods والمواد المشجعة على الدعم الحيوى Prebiotics وكذلك الأغذية للإستعمالات الصحية المتخصصة FOods for Specified Health Use (FOSHU) من أهم أقسام الأغذية الوظيفية Functional food ولعل (FOSHU) هى الترجمة الإنجليزية لما عرفته الجهات الرسمية اليابانية بأنها (الأغذية المحققة للصحة تحديداً). ومن المهم معرفة ان (FOSHU) حددت لأن تكون اغذية عامة تستهلك يوميا وتحل محل الأغذية الشائعة فى الوجبات كما يجب الا تكون فى صورة حبوب أو كابسولات أو حتى أى أشكال من المدعمات التغذوية للوجبات. وتندرج تحت مجموعة FOSHU الزبادى ومشروباته واللبن القليل بالفوسفور low phosphorus milk ومشروبات حمض اللاكتيك (Baily, 1997). ولعل من نافلة القول أن نذكر أنه فى دراسات بحثيةعلى تطور تلك المنتجات بواسطة (Arts 1996) فلقد بلغت قيمة إجمالى المواد الغذائية للفئات الحساسة ٨٠ مليون دولار فى حين أن الأغذية الداعمة للحيوية اللبنية بلغت ٥٠ - ٢٠٠ مليون دولار وبصفة إجمالية ١٣,٤ بليون دولار للأغذية الوظيفية مما يعكس التطور والنظرة المستقبلية لمثل تلك المنتجات وقيمتها الصحية. أيضاً النرويج من الدول الأوربية التى شجعت على إنتاج منتجات لبنية داعمة للحيوية مثل جبن الكوارج Quarg والمثلوجات اللبنية وإهتمامها بتلك المنتجات بما يضمن تحقيقها للفعل الداعم للحيوية على مستوى البيئة النرويجية (Narvhus, 1997).

وإذا كانت اليابان ومجموعة من الدول الأوربية تحتل الصدارة فى إنتاج المنتجات الغذائية الداعمة للحيوية فتجدر الإشارة إلى أن نسبة المنتجات اللبنية تربو على ٧١٪ من إجمالى المنتجات الغذائية الداعمة للحيوية نظراً لما تشكله المنتجات اللبنية المتخمرة Fermented dairy products من شهرة وإتساع فى إستخدام السلالات الميكروبية المتخصصة والتى تحتوى على السلالات الداعمة للحيوية (Modler et al., 1990b). وبصفة خاصة فإن معظم المنتجات اللبنية الداعمة للحيوية ستكون السلالات البكتيرية

التابعة للجنسين *Lactobacillus* و *Bifidobacterium* محوراً لتصنيعها لما تحققه من منافع صحية وفعلاً داعماً للحيوية كما سبق سرده بالمقدمة. وإذا كانت كل هذه المميزات للسلالات الداعمة حيوياً مجالاً لإرتقاء كل التطبيقات لإستخدامها فى العقاقير الطبية ومنتجاتها (Rasic and Kurmann, 1983) وكذلك اغذية الأطفال والمنتجات اللبنية المتخمرة، فلقد تم فى عام ١٩٦٨ إستخدام البيفيدوباكتيريا فى منتجات الألبان على يد (Schuler et. al. 1968) ثم تطورت بعد ذلك لتنتج تحت إسم منتجات Biogard® (Klupsch, 1983) ثم تطورت بعد ذلك عملية إنتاج المنتجات اللبنية الداعمة للحيوية والتى تعتبر الألبان المتخمرة Fermented dairy products من اشهر تلك المنتجات على الإطلاق.

هذا ولقد اشار (Renard 1998) واصفا تطور وازدهار منتجات الألبان الداعمة للحيوية فى السوق الأوروبى والتى تستخدم *Bifidobacterium* مابين الفترة من ١٩٨٦م حتى ١٩٩٠م حيث إزدهرت السوق الفرنسية وزادت فيها كميات الألبان المتخمرة بجنس البيفيدوباكتيريا من ١٥٠٠ طن إلى ٩١,٠٠٠ طن. أما الجيل الثانى من تلك المنتجات الداعمة حيوياً فى شركة (نسلة Nestle) عام ١٩٩٥م فاستطاعت ان تحتل ٢٠٪ من مبيعات الألبان المتخمرة فى أوروبا وحوالى ٩٪ من مبيعات السوق الفرنسية. وتجدر الإشارة إلى ان معظم الألبان الداعمة حيويا ومنتجاتها والتى ظهرت فى الأسواق الأوربية على مدار الخمس سنوات الأخيرة من النوع Synbiotic (كلا من Pro and Prebiotic) حيث تحتوى معظمها على الأنيولين Inuline وعديدات الفركتوز Oligofructoses. وعلى سبيل المثال منتج من هولندا يسمى Melt Drink يحتوى على:

Bif. bifidum, *Lb. acidophilus* and 1% Inuline

وكذلك منتج Fyos من Nutricia وهو إختصار للـ .Flavoured milk with oligofructose and *Lb. casei* ايضا منتج آخر من سويسرا Symbalance from Switzerlands and Tonilait يحتوى *Lb. reuteri, Lb. acidophilus, Lb. casei* و *Bifidobacterium* معا بالإضافة إلى

الأنيولين. هذا ولقد وصف (Persin and Kuhn 1999) إزدهار السوق الألمانية بتواجد الأغذيـــة الداعمـــة للحيويـــة علـــى غـــرار إنتشـــارها فـــى اليابـــان بإســـم Food for specified health use(FOSHU) شملت تلك المنتجات غالبيتها على الألبان المتخمرة السائلة وكذلك المشروبات اللبنية Soft drinks.

٢- الألبان المتخمرة الداعمة للحيوية

Probiotic fermented dairy products

يعتبر اللبن الزبادى من اشهر الألبان المتخمرة ذات التأثير المحسن للفلورا المعويـة. ومـــن اشـــهر واغلـــب الســـلالات البكتيريـــة المســـتخدمة لإحـــداث التخمـــر فيهـــا *Streptococcus thermophilus* وكذلك *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*. ولقد تغيـرت النظرة التقليديـة لبادىء الزبـادى بإدخـال سـلالات أخـرى لها تـأثير صحى وداعـــم للحيويـــة عـــال مثـــل *Lactobacillus acidophilus* وكـــذلك *Bifidobacterium bifidum* ضمن مكونات البادىء حيث عظم مـن الفعاليـة الحيويـة لهذا المنتج (Tamime and Robinson, 1985). حيث ثبت ان الإستهلاك المنتظم للزبـادى بمعدل ٤٠٠-٥٠٠ جـرام اسبوعيا والمحتوى على ١٠^٦ خليـة/جـم منـتج مـن خلايـا *Bifidobacterium spp.* و *Lactobacillus acidophilus* عملت علـى تحسـين وتوازن المحتوى الميكروبى فى القناة الهضمية بما يضمن إضافة قيمة علاجيـة وصحية جيـدة (Tamime et al., 1995). ولهذا فبعـــض منتجات الزبـادى عدلت بادئاتـه ليشمـــل *Lb. acidophilus* و *Bifidobacterium spp.* والمعروفـــة بإســـم (AB-ciutures). حيث بلغت ٤٪ من مبيعات الألبان الطازجـة الكليـة فـى فرنسـا وحـوالى ٢٥٪ من إنتاج الألبان المتخمـرة فـى السويد (Hughes and Hoover, 1995). الزبـادى الـداعم للحيويـة Probiotic yoghurt المحتـوى علـى AB-culture تم إنتاجـه ايضـا فـى المانيـا واليابـان وكنـدا وإيطاليـا وبولنـدا والتشـيك وسـلوفاكيا وإنجلـترا وكـذلك البرازيـل

(Orihara et al., 1992) فى حين إحتلت نسبة إنتاج الزبادى الداعم للحيوية ٧,٥٪ من سوق الزبادى الأسترالى (Australian Dairy Corporation, 1993).

ومن أهم الأشياء الواجب أخذها فى الإعتبار هو معدل النمو والتواجد لهذه السلالات الداعمة للحيوية فى المنتج خلال فترات التخزين وكذلك معدلات تواجدها وإلتصاقها بالقناة الهضمية وتحملها لمثل هذه الظروف الحمضية للمعدة وكذلك الإنزيمات وأملاح الصفراء فى الأمعاء الدقيقة حسب ما اشار (Playne 1994). لذا فمن المهم ان تتواجد على الأقل تلك السلالات الداعمة للحيوية بمعدلات لاتقل عن $١٠^{٦}$ خلية حية/مل لكى تحدث الفعل الداعم للحيوية. على الرغم من أن بعض الباحثين إقترح أن يكون هذا الحد هو $١٠^{٨}$ - $١٠^{٩}$ خلية حية مثل (Kurman and Rasic,1991) .

ومن أهم المشاكل التى تعترى عملية إنتاج الألبان المتخمرة (الزبادى) الداعمة للحيوية دعماً للحقيقة السابقة هى أن غالبية تلك السلالات البكتيرية الداعمة للحيوية فى المنتج لاتصل إلى الحدود العليا لها وكذلك نشاطها لايصل إلى الحدود القصوى له (Anon, 1993). كما ان سلالات Bifidobacteria المستخدمة فى مستحضرات الزبادى غالبا ماتقاوم Survive حموضة المنتج اثناء التخزين وحموضة القناة الهضمية مما قد يؤثر سلبا على تواجدها Viability (Varnam and Sutherland, 1994). لذا فمن المهم ان تكون تلك السلالات فى الزبادى بأعداد معينة خلال فترة الصلاحية للمنتج تسمح لها بالفعل الداعم للحيوية Probiotic effect. ولعل دراسة معدلات التواجد للسلالات الداعمة حيوياً فى الزبادى والألبان المتخمرة بصفة عامة كان أمراً مستبعداً فى الماضى وذلك لعدم المقدرة على ايجاد بيئة إنتخابية Selective media لعد ودراسة الـ Bifidobacteria فعلى الرغم من ان (Scardovi 1986) إقترح ان بيئة واحدة لاتكفى او تصلح لكل انواع البيفيدوباكتيريا، فحديثا قدم (Lankaputhra et. al.1996) سبع بيئات مختلفة يمكن إستخدامها لإنتخاب ست سلالات من *Lb. acidophilus* وتسع سلالات من *Bifidobacterium spp.*. ومن هذا المنطلق قامت الأبحاث العديدة منذ ذلك

الحين وحتى الآن فى كيفية تنشيط تواجد تلك السلالات الداعمة حيوياً بإستخدام عديد من المدعمات الحيوية Prebiotics كما سيأتى ذكره لاحقا.

١-٢ العوامل المؤثرة على حيوية ومعدلات تواجد سلالات *Lb. acidophilus and bifidobacteria* فى اللبن الزبادى

من المعروف أن تواجد البادىء التقليدى للبن الزبادى وخاصة *Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus* وما يسببه فى إرتفاع الحموضة فى اللبن الزبادى من أهم المعوقات لحيوية وتواجد سلالات *Lb. acidophilus* والـ Bifidobacteria (Modler and Villa-Garcia, 1993). لذا فقد درس (Lankaputhra et. al.1996) حيوية وبقاء البيفيدوباكتيريا فى ظروف حمضية حيث توصل إلى أن انواع *longum* ، *infantis* للجنس *Bifidobacterium* اكثر الأنواع تحملاً للظروف الحمضية (جدول ٢).

إن حيوية ومعدلات تواجد البكتيريا الداعمة للحيوية فى اللبن الزبادى كانت محوراً لعديد من الأبحاث (Young and Nelson, 1978; Costello, 1993 and Bertoni et al., 1994) التى أجمعت على أن العوامل التى تؤثر على تلك الحيوية تنحصر فى النقاط التالية:

- السلالات المستخدمة.
- التداخلات البيئية بين السلالات البكتيرية المستخدمة.
- ظروف نمو السلالات.
- التركيب الكيماوى للبن المستخدم وخاصة نسبة اللاكتوز به (مصدر الطاقة).
- الحموضة النهائية.
- محتوى اللبن من الجوامد الصلبة.
- مدى إستهلاك المواد الغذائية باللبن Nutrients بواسطة تلك السلالات.
- محددات النمو للسلالات من منشطات ومثبطات.
- نسبة السكريات الكلية عند وجود مصادر محلية أخرى وذلك مراعاة للضغط الأسموزى.
- الأكسجين المتاح Dissolved oxygen خاصة بالنسبة لـ *Bifidobacterium*.
- معدلات اللقاح للبادىء.

- درجة حرارة التحضين.
- وقت التخمر (التجبن).
- درجة حرارة التخزين.

جدول (٢): حيوية السلالات الداعمة للحيوية فى ظروف حامضية

Survival of Bifidobacterium spp under acidic conditions during six weeks storage at 4°C. Viable counts are expressed as cfu/g.

Strain	Storage period								
	pH	Day 0	Day 6	Day 12	Day 18	Day 24	Day 30	Day 36	Day 42
B. bifidum 1900	4.3	8.5×10^7	8.5×10^6	9.4×10^5	5.4×10^4	8.1×10^2	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$
	4.1	8.5×10^7	8.2×10^3	$< 10^1$	$2< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$
	3.9	8.5×10^7	7.5×10^2	$< 10^1$	$2< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$
	3.7	8.5×10^7	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$
B. bifidum 1901	4.3	8.9×10^6	6.9×10^6	2.9×10^6	1.7×10^5	4.8×10^4	5.7×10^3	$< 10^1$	$< 10^1$
	4.1	8.9×10^6	2.2×10^5	9.5×10^3	5.5×10^2	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$
	3.9	8.9×10^6	9.5×10^4	9.2×10^2	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$
	3.7	8.9×10^6	1.5×10^4	5.6×10^2	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$
B. infantis 1912	4.3	3.9×10^8	3.2×10^8	2.7×10^8	7.8×10^7	7.2×10^7	7.1×10^7	7.0×10^7	7.0×10^7
	4.1	3.9×10^8	5.9×10^7	5.9×10^7	5.1×10^7	5.0×10^7	5.0×10^7	5.1×10^7	5.0×10^7
	3.9	3.9×10^8	9.8×10^7	9.1×10^7	4.7×10^7	3.2×10^7	3.1×10^7	1.5×10^7	1.0×10^7
	3.7	3.9×10^8	8.9×10^7	8.4×10^7	9.7×10^6	9.1×10^6	8.6×10^6	6.3×10^6	6.2×10^6
B. adoles-centis 1920	4.3	1.6×10^6	9.4×10^4	5.8×10^2	3.5×10^1	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$
	4.1	1.6×10^6	7.9×10^4	4.6×10^1	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$
	3.9	1.6×10^6	9.0×10^3	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$
	3.7	1.6×10^6	8.1×10^3	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$
B. breve 1930	4.3	5.2×10^9	2.0×10^8	1.3×10^5	5.7×10^2	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$
	4.1	5.2×10^9	3.2×10^7	5.4×10^3	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$
	3.9	5.2×10^9	8.2×10^2	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$
	3.7	5.2×10^9	3.6×10^2	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$
B. longum 1941	4.3	6.7×10^8	6.6×10^8	6.5×10^8	6.5×10^8	6.4×10^8	6.3×10^8	6.0×10^8	5.6×10^8
	4.1	6.7×10^8	6.4×10^8	6.4×10^8	6.4×10^8	6.4×10^8	6.3×10^8	5.1×10^8	4.6×10^8
	3.9	6.7×10^8	6.4×10^8	6.3×10^8	6.3×10^8	6.3×10^8	5.0×10^8	3.7×10^8	3.5×10^8
	3.7	6.7×10^8	6.3×10^8	6.3×10^8	6.3×10^8	5.2×10^8	3.4×10^8	3.0×10^8	3.0×10^8
B. longum 20097	4.3	3.5×10^7	7.2×10^6	5.4×10^4	2.7×10^4	6.4×10^2	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$
	4.1	3.5×10^7	6.7×10^3	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$
	3.9	3.5×10^7	5.2×10^2	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$
	3.7	3.5×10^7	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$
B. pseudo-longum 20099	4.3	8.9×10^8	8.9×10^8	8.6×10^8	6.4×10^8	5.8×10^8	3.9×10^8	3.1×10^8	9.8×10^7
	4.1	8.9×10^8	8.9×10^8	8.6×10^8	6.1×10^8	5.2×10^8	3.2×10^8	2.1×10^8	9.8×10^7
	3.9	8.9×10^8	7.6×10^8	7.2×10^8	7.3×10^8	6.7×10^8	5.2×10^8	3.6×10^8	9.4×10^7
	3.7	8.9×10^8	6.2×10^8	6.6×10^8	5.4×10^8	3.2×10^8	1.2×10^8	8.6×10^7	7.4×10^7
B. thermo-philum 20210	4.3	5.4×10^7	5.3×10^7	5.0×10^7	3.8×10^7	7.2×10^5	5.6×10^4	7.0×10^1	$<10^1$
	4.1	5.4×10^7	4.9×10^7	3.3×10^4	5.8×10^2	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$
	3.9	5.4×10^7	1.2×10^7	1.1×10^4	4.7×10^1	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$
	3.7	5.4×10^7	9.8×10^5	6.4×10^2	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$

Milchwissenschaft 51 (2) 1996

٢-٢- بعض من اشهر الأصناف التجارية للألبان المتخمرة الداعمة للحيوية واشهر السلالات الداعمة للحيوية:

تعتبر الأصناف التالية من أشهر الأصناف التى تستخدم فيها الطرز الداعمة للحيوية مثل *Lactobacillus acidophilus* و *Bifidobacterium* وذلك حسبما اشار إليه Oberman and Libudjisz (1998) (جدول ٣).

جدول (٣): أشهر المنتجات اللبنية المتخمرة المحتوية على الأجناس الداعمة حيوياً

Table (3): Some fermented milks products using intestinal Lactobacillus and bifidobacteria

Products	*Microorganisms*
Philus	*Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium bifidum, Streptococcus thermophilus.*
Acidophilus milk	*Lactobacillus acidophilus*
Acidphilus buttermilk	*Lactobacillus acidophilus*
Kyr	*Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium bifidum, Streptococcus thermophilus, Lactobacillus delbrueckii.*
Biogarde	*Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium bifidum, Streptococcus thermophilus*
Bifighurt	*Lactobacillus acidophilus, Streptococcus thermophilus*
Yoplus	*Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium bifidum, Streptococcus thermophilus, Lactobacillus delbrueckii.*
Biogurt	*Lactobacillus acidophilus, Streptococcus thermophilus.*
Bifidus milk	*Bifidobacterium bifidum. Bifidobacterium longum*
Biomild	*Lactobacillus acidophilus.*
Mil-Mil	*Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium breve.*
Nu-Trish A/B Milk	*Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium bifidum.*
Progurt	*Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium bifidum, mesophilic lactococci..*

المصدر: Adapted from Oberman, H and Libudjisz, Z (1998).

والجدول التالى (جدول ٤) يوضح اهم اشهر السلالات الداعمة للحيوية ومصادرها حسبما اشار (Sanders and Huis 1999).

جدول (٤): اشهر الميكروبات الداعمة حيويا

Table (4): Partial list of characterized probiotic strain.

Commercially available strains for which little in vitro or in vivo characterization has been published are not included. Species identification is as reported by manufacturer, which may not reflect the most current taxonomy.

Strain	Source
L.acidophilus NCFM®	Rhodia, Inc. (USA)
L.acidophilus DDS-1	Nebraska Cultures, Inc. (USA)
L.acidophilus SBT-2062	Snow Brand Milk Products Co., Ltd. (Japan)
L.acidophilus LA-1	Chr. Hansen, Inc. (USA)
L. casei Shirota	Yakult (Japan)
L. casei DNo14001 (Immunitas)	Danone (France)
L. fermentum RC-14	Urex Biotech (Canada)
L. johnsonii La -1	Nestec Ltd. (Switzerland)
L. paracasei CRL 431	CHr. Hansen, Inc. (USA)
L. plantarum 299V	Probi AB (Sweden)
L. reuteri SD2112	Biogaia (USA)
L. rhamnosus GG	Biogaia (USA)
L. rhamnosus GR-1	Urex Biotech (Canada)
L. rhamnosus 271	Probi AB (Sweden)
L. salivarius UCC118	University College Cork (Ireland)
Bi. Lactis Bb-12	Chr. Hansen, Inc. (USA)
Bi. longum BB536	Morinaga Milk Industry Co., Ltd. (Japan).
Bi. longum SBT – 2928	Snow Brand Milk Industry Co., Ltd (Japan)
Bi. breve strain Yakult	Yakult (Japan)

٢-٣- المحاولات الحديثة لإنتاج الألبان المتخمرة السائلة الداعمة للحيوية

Probiotic liquid fermented milks

إن إستخدام سلالات الدعم الحيوى لمنتجات الألبان وخاصة اللبن السائل المتخمر لاقت إنتشاراً كبيراً لاسيما وأن هذه المنتجات أقل حموضة من الزبادى لذلك فهى لاتحد من نمو أجناس *Bifidobacterium* (Rasic and Kumann, 1983). وتعتبر اليابان من أشهر الدول دعماً لإنتاج منتجات الألبان السائلة الداعمة للحيوية والمحتوية خصيصاً على البيفيدوباكتيريا وتنتشر فيها عديد من المشروبات الشائعة الداعمة حيوياً فى سوق المنتجات اللبنية فيها والممثلة ٣/١ إنتاجها. كما أن فرنسا من أكثر الدول إنتاجاً لمثل تلك المنتجات خاصة شركات Yoplait و Dannon فى باريس حيث قدمت مشروبات الألبان المتخمرة السائلة الداعمة للحيوية للسوق الأوروبى (Hughes and Hoover, 1995).

وإستخدام *Bifidobacterium* فى الألبان المتخمرة السائلة كان محوراً لعديد من الأبحاث منها (Collins and Hall, 1984 and Misra and Kuila, 1991) فهناك لبن البيفيدس Bifidus milk وهو يصنع بإستخدام الأنواع *bifidum* و *longum* حيث يحضر بالتعديل وإضافة نسبة من البروتين إما فى صورة لبن فرز أو لبن مرشح Ultrafiltration وهو يستخدم كمنتج علاجى أساساً عنه كلبن متخمر لعدم تقبل النكهة الخاصة به من قبل المستهلكين والمنتج النهائى لايتعدى pH له عن ٤,٥ ولعدم ثباته فإنه يحضر منه مستحضرات دوائية مجففة. أما لبن Bifidus-acidophilus يعرف بإسم Cultura فى الدانمارك و Mil Mil فى اليابان وقدرته الحفظية أكبر من البيفيدس وبادئه هو *Bif. bifidum* و *Lb. acidophilus*. بينما لبن *Bifidus-thermophilus* يعرف فى ألمانيا بإسم Bifighurt حيث يصنع من *Bif. longum* و *Str. thermophilus* بنسبة بادىء ٦٪. فى حين أن توليفة إنتاج Bifidus-*acidophilus*-*thermophilus* ويرجع الإسم لإستخدام السلالات الدالة عليها هذه التوليفة تعرف بإسم Biograde حيث يتم تنميتها فى بيئة خاصة تضاف للبن

لتنشيط تواجدها. وهناك توليفة اخرى Bifidus-acidophilus-pediococcus يطلق عليها إسم تجارى "Biokys" فى بلدان التشيك وكذلك السلوفاك.

وعلى الرغم من أن اللبن البقرى يصعب فيه تنمية البيفيدوباكتيريا نظراً لعدم إحتواءه على عوامل نمو وتشجيع البيفيدوباكتيريا (Tamura, 1983) فعلى سبيل المثال *Bif. longum* تحتاج عوامل نمو متخصصة بالأضافة إلى جهد الأكسدة والإختزال المنخفض، لذلك يمكن تنمية هذه السلالات فى بيئة متخصصة سائلة مثلاً بيئة MRS على مستوى كبير large-scale إلا ان تكلفة إستخدام تلك البيئات ستحول ضد إنتشار مثل تلك المنتجات. كما أن حصاد الخلايا من تلك السلالات يمكن أن يشكل عيباً كبيراً فى إعطاء نكهة غير مقبولة فى المنتج النهائى (Modler et al., 1990) حتى لو تم غسيل تلك الخلايا. وعليه فلقد اقترح (Ventling and Mistry 1993) إمكانية إنتاج منتج لبنى داعم للحيوية ذو جودة عالية بإستخدام بيئة لبنية مناسبة مثل Ultrafiltered milk حيث تم إستخدام لبن فرز خام تم ترشيحه على ٥٤ م بنسبة تركيز نهائيه ٢ : ١ و ٣ : ١ و ٤ : ١ وايضا ٥ : ١ ثم لقح بأجناس *Bifidobacterium* خاصة الأنواع *bifidum* و *longum* بنسبة ٥٪ بحيث ان متوسطات تركيز الأعداد لتلك السلالات تراوحت بالمنتج بين ١٠^٨ : ١٠^٩ خلية/ مل وكانت الحموضة تتراوح حول ٠,١٦٪ والـ pH ٥,٥٥. وخلص البحث إلى التوصية بأن لزيادة السعة التنظيمية للبن الفرز المرشح وإعتدال حموضته فإنه يمكن ان يستخدم لإنتاج لبن متخمر داعم للحيوية.

وفى دراسة اخرى قام بها (Anonymous 1996) إنتهى إلى إنتاج منتج لبنى متخمر سائل يحتوى ٣,٤٪ دهن ومعدلات من سلالات جنس Lactobacillus للنوعان *acidophilus* و *bifidus* تحقق الدعم الحيوى بحيث إحتوى هذا المنتج على Oligofructose كعامل Prebiotic. ايضا تم إستخدام بعض المستحضرات النباتية مثل Peanut milk وكذلك بعض الأحماض الأمينية وذلك لتنشيط نمو جنس *Bifidobacterium* فى اللبن الجاموسى (Murad et al., 1997).

ولقد تم تقديم منتج جديد داعم للحيوية يسمى (Bififrut) من قبل معمل Prioritet فى بلدة Ekaterinburg الروسية (Chernyaev et al., 1998) وهو لبن متخمر بسلالات داعمة للحيوية ومدعم بإضافات من الفاكهة وهذا المنتج تم إنتاجه على مستوى محلى فى روسيا وخاصة للأطفال حيث تم دراسة معدلات حفظه وتأثيره الغذائى والصحى. ولن نغادر روسيا بدون أن نذكر أن اللبن المتخمر الشهير فيها وهو Kefir حيث امكن إستخدامه أيضاً لإنتاج منتجين مشتقين منه داعمان للحيوية، فلقد سجل البحثان الذان قام بهما (Molokeev et. al.1998) بأنهما إحتويا على البيفيدوباكتيريا وتم تدعيمهما بفيتامين B-complex وحمض الأسكوربيك والجلوتاميك والثريونين وتم تخزينه لمدة ١٤ يوم محافظاً على فعلهما الحيوى تجاه البكتيريا المرضية وأيضاً أظهرا نشاطاً عاليا على تثبيط التوكسينات. ويعد الكفير من أهم الألبان المتخمرة الداعمة للحيوية لارتفاع القيمة الحيوية جداً لبروتينه (Zubillage et al., 2001).

ولم يقتصر إدخال الفاكهة فقط على الألبان السائلة الداعمة للحيوية ولكن تم إنتاج منتجات أخرى تحتوى على مشتقات من الدقيق والطماطم فى الهند (Rani and Knetarpaul, 1998) حيث تم التخمير بواسطة السلالات الداعمة حيويا لمخلوط من Pearl millet flour و Chickpea flour واللبن الفرز المجفف وعصير من الطماطم الطازج بنسبة ٢ : ١ : ١ : ١ (وزن لكل وزن). ومن الشيق بهذا البحث أن معدلات الـ *Lb. acidophilus* والتى بلغت حوالى $١٠^٩$ خلية حية/مل إستطاعت تثبيط نمو *Shigella dysenteria* و *Salmonella typhosa* و *E. coli*. ولعل إنخفاض الـ pH فى هذا المنتج من أهم أسباب إرتفاع النشاط للفعل الداعم للحيوية.

ويتوالى إنتاج المنتجات اللبنية الهندية الداعمة للحيوية السائلة حيث خلصت نتائج البحثان الذان قام بهما (Sarkar and Misra1998) إلى إمكانية إستخدام لبن تم تخميره بواسطة *Bif. bifidum* و *Lb. acidophilus* وكذلك *Propionibacterium freudenreichii subsp. shermanii* والذى تم تسميته

باسـم Propiono-Acido-Bifido milk (PAB) واحـتفظ المنـتج بالفعـل الـداعم للحيويـة والصـفات التكنولوجيـة الجيـدة ممـا أهلتـه بفعاليـة لأن يوصـى بـه فـى حـالات حساسية اللاكتوز Lactose intolerant. ولقد شجعت نتائج هذان البحثـان علـى إدخـال تلك المواصفات من السلالات والفعل الحيوى لإنتاج زبادى على نفس الطريقة.

وبعيـــداً عـــن الألبـــان التقليديـــة الداعمـــة للحيويـــة، فلقـــد ذكـــر (Abu-Tarboush et. al.1998) إمكانيـة إستخدام لـبن الجمـال لإنتـاج منـتج لبنـى متخمـر داعـم للحيويـة حيـث إسـتخدم سـلالتين مـن *Bif. bifidum* وكـذلك *Bif. angulatum* و *Bif. breve* حيـث أظهـرت النتـائج معـدلات عاليـة مـن التحلـل البروتينى Proteolytic activity فى اللبن المتخمر من لبن الجمال مقارنة باللبن البقرى بالإضافة إلى أنه أظهرت الحيوية للسلالات الداعمة حيوياً معدلات جيـدة فـى لـبن الجمـال. وفـى محاولـة لإنتـاج اللـبن الخـض المتخمـر Butter milk كمنـتج داعـم للحيويـة، ذكـر (Ervol'DER et al.1999) انـه امكـن إسـتخدام الـ Butter milk المعـدل جوامـده الصلبة بمواد غذائية طبيعية ولايحتوى على لبن فرز حيث تم تلقيحه بالبيفيـدوباكتيريا و *Lb. acidophilus* فى الإنتـاج. وفـى دراسـة حديثـة لـ (Vinderola et. al.2002) إسـتهدفت التعـرف علـى التـأثيرات للإضـافات المختلفـة NaCl، KCl، السـكر، اللاكتـوز، المحليات، الداى أسيتيل، الأسيتالدهايد، الملونات الصفراء والحمـراء والبرتقال، مـواد الطعم للفراولـة والفانيليـا والمـوز والملونـات المصـاحبة، النيسـين، والليـزوزيم المستخدمـة فـى الصناعـــــات اللبنيـــــة علـــى نمـــو بكتيريـــا حمـــض اللاكتيـــك *Str. thermophilus, Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus and Lactococcus lactis* مـع البكتيريـا الداعمـة حيويـا *Lb. acidophilus* و *Lb. casei* و *Lb. paracasei* و *Lb. rhamnosus* مع *Bifidobacterium* فى إنتاج اللـبن المتخمـر السـائل مـن حيـث النكهة ومركباتها. هذا وقد أوضحت النتـائج أن مـواد الطعـم واللـون المضـافة للبن المتخمـر السائل أثرت بصورة واضحة على نمو بكتيريا حمض اللاكتيـك والبكتيريـا الداعمـة حيويـا

بينما تؤثر بقلة العصائر الطبيعية على حيوية *Str. thermophilus* بينما المواد الأخرى لم تظهر أى تأثير.

٢-٤- الزبادى واليوغورت الداعم للحيوية

Probiotic yoghurt (Bio-yoghurt)

إذا كانت تكنولوجيا إستخدام المزارع البكتيرية من البيفيدوباكتيريا فى اللبن المتخمر بدأت على يد (Schuler Malyoth et. al.1968) إلا ان إستخدام البادئات الداعمة للحيوية والتى عرفت آنذاك بإسم Biogard starters والتى إحتوت على *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus; Lb. acidophilus and Bifidobacterium bifidum* واقترح إستخدامها بواسطة (Kisza et. al.1978) و (Ruppert 1978). ولقد تبعتها عديد من المحاولات الناجحة للوصول إلى أعلى جودة من الزبادى الداعم للحيوية آنذاك منها على سبيل المثال:

Dolezalek and Plockova (1981), Klupsch (1983), Hansen (1985), Robinson (1987) and Misra and Kuila (1990, 1991 and 1992 a,b).

وتعد توليفات إضافة *Bif. bifidum* والتى تبعتها *Lb. acidophilus* إلى بادىء اللبن الزبادى أدت إلى تطوير الزبادى من حيث النكهة والإستخدام الحيوى المتخصص Rasic and Kurmann (1979 and 1983) حيث تم إنتاج ٩٠٪ من حمض اللاكتيك (L+) المحسن للقوام والمتميز بأن إحتمالاته ضعيفة لتطور الحموضة Postacidification ويكون عناصر جيدة للطعم وفترة حفظه طويلة بالإضافة لقدرته الهضمية العالية (Klupsch, 1983).

ونظرا للتطور الهائل فى إمكانية إستخدام السلالات الداعمة حيويا فى الألبان المتخمرة وإذا كان على رأس هذه المنتجات اليوغورت Yoghurt، إلا ان مشكلة حيوية ومعدلات تواجد كل من السلالات الداعمة للحيوية مع بادىء اليوغورت هى منظور الإتجاه البحثى فى هذا المجال وهناك عديد من العوامل التى تساعد على ضعف حيوية البيفيدوباكتيريا فى اليوغورت أهمها الحموضة المتكونة وحموضة المعدة ومحتويات

(Ishibashi and Shimamura, 1993; Medina and Jordono, 1994 and Lankaputhra et al., 1996).

حيث قام (Lankaputhra et. al.1996) بالتعرف على حيوية خلايا البيفيدوباكتيريا خلال التخزين فى وجود الحمض وفوق أكسيد الهيدروجين حيث توصلت الدراسة إلى الحصول على ٦ سلالات من ٩ للبيفيدوباكتيريا لم يتحملوا الحمض و H_2O_2 بينما تحصلت الدراسة على ثلاث سلالات وهم *Bif. infantis* 1912 و *Bif. longum* 1941 و *Bif. pseudolongum* 20099 إستطاعت أن تتحمل الحموضة العالية و H_2O_2 لذلك تم إعتمادهم لإمكانية إستخدامهم كـ Adjucts فى المنتجات اللبنية.

ولقد سجل (Dave and Shah 1997a) أن زيادة أعداد السلالات الداعمة حيوياً خلال تصنيع الزبادى من مصادر تجارية إعتمدت على نوع السلالة المستخدمة مع بادىء اليوغورت، حيث أن حيوية *Lb. acidophilus* تأثرت بوجود بادىء اليوغورت فى حين إحتفظت Bifidobacteria بنشاطها وحيويتها مع نفس بادىء اليوغورت، كما أن الحيوية ومعدلات البقاء تحسنت مع قلة الأكسجين الذائب. فى حين أن إستخدام بادىء اليوغورت مع السلالات الداعمة حيويا عمل على زيادة حيوية أنواع *longum* ، *bifidum* ، *infantis* للجنس *Bifidobacterium* وارجعت الأسباب إلى خروج إنزيمات β-galactosidases المنشطة للفعل الداعم للحيوية من سلالات البيفيدوباكتيريا (Shah and Lankaputhra, 1997).

أيضا تم التوصل إلى أن إستخدام حمض الأسكوربيك المختزل للأكسجين حسن معدلات تواجد بعض السلالات الداعمة للحيوية عند تصنيع الزبادى (Dave and Shah, 1997b). كما أوصت نتائج الدراسة التى قام بها (Dave and Shah 1997c) بأن إستخدام السيستئين Cysteine خلال تصنيع الزبادى ببادىء الزبادى العادى بالإضافة إلى البيفيدوباكتيريا حسن أيضا معدلات حيوية

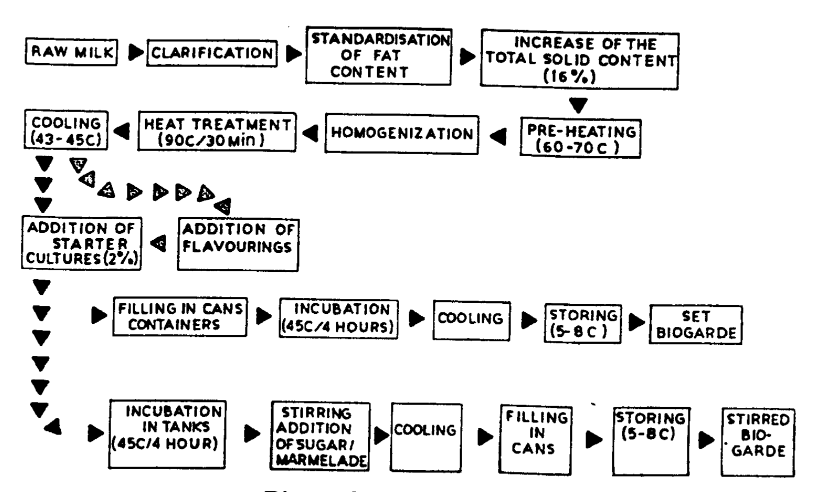
وتواجد السلالات الداعمة حيويا. كما اشار (Gomes et. al.1998) بإمكانية تحسين الحيوية بإستخدام متحللات اللبن Milk-hydrolysate للبيفيدوباكتيريا وكذلك *Lb. acidophilus*. ولم يكن السيستئين فقط هو المحسن لحيوية البيفيدوباكتيريا فى الزبادى، فلقد سجل (Dave and Shah 1998) انه درس تأثير إضافة الشرش المجفف، ومركزات بروتين الشرش، وكذلك متحللات الكازين المحمض acid casein hydrolysate، والتربتوفان بالإضافة للسيستئين على حيوية البيفيدوباكتيريا وكذلك *Lb. acidophilus* و *Str. thermophilus*. واظهرت النتائج زيادة مقدرة حيوية البيفيدوباكتيريا بإضافة مركزات بروتين الشرش والكازين المتحلل فى حين تفوقت حيوية بادىء الزبادى مع متحللات بروتين الشرش.

وبعيداً عن دراسة معدلات التواجد والعوامل المؤثرة عليها فقط فلقد سجل (Misra and Kuila 1994) إمكانية إنتاج الزبادى الداعم للحيوية بإستخدام لبن معدل جوامده الصلبة لتصل إلى ١٦٪ حيث عومل حرارياً على ٩٥°م لمدة نصف ساعة ثم برد إلى ٢٣ - ٤٥°م ولقح فى حالة Biogard بـ ٢٪ من البيفيدوباكتيريا وبادىء اليوغورت (١ : ١). بينما فى حالة Bifighurt تم إضافة ١٪ من *Lb. acidophilus*. ولقد اوضحت الدراسة تلخيصاً لطريقة الصناعة (شكل ٥).

ولقد أظهر المنتج سواء المدعوم أو غير المدعوم بعصائر الفاكهة نكهة وقوام جيدة بيد إن المنتج لم يظهر أية تضاد له مع *E. coli* و *Shigella dysentaria* و *Staph. aureus* و *Bacillus cereus*.

وفى محاولة لإمكانية زيادة كمية البادىء من البيفيدوباكتيريا بالإضافة إلى بادىء لبن الزبادى بمعدل ٥٪ عمل على تحسين تواجد السلالات الداعمة حيويا (El-Nagar and Shenana, 1998) بمعدل ١٠^{٦} - ١٠^{٨} خلية حية لكل مل. بينما إستطاع (Ghaleb et. al.1998) ان ينتج لبن زبادى داعم للحيوية من اللبن الجاموسى ٥,٥٪ دهن و ٨,٧٥٪ جوامد صلبة لا دهنية يحتوى على *Bif. bifidum* من اجل تقليل

الكوليسترول. وعلى نفس النهج فهناك العديد من المحاولات المشابهة لإنتاج الزبادى الداعم حيويا منها (Aspasia and Robinson, 1994; Salama and Hassan, 1994; Samona and Robinson, 1994; Shah et al., 1995; Marshall, 1996 and Kailiasapathy and Rybka, 1997).



شكل (٥): ملخص تخطيطى لتصنيع الـ **Biogarde** (المنتج الداعم للحيويه)

Fig. (5): Flow diagram for the manufacture of Biogarde

وعلى نهج آخر فبالإضافة إلى كل هذه القيم العلاجية والصحية لهذا المنتج فقد أمكن إضافة قيمة علاجية أخرى بإضافة زيوت عطرية لبعض النباتات الطبية التى تستخدم فى صورة كبسولات علاجية. وقد وجد أن هذه الزيوت لم تؤثر على نمو الـ *Bifidobacterium* فى المنتج سلبياً بل كان لها تأثير إيجابى مشجع على نموها إضافة إلى تحسين الطعم وزيادة تقبل المستهلك فهى تصلح لجميع المراحل السنية وخاصة الرضع وكبار السن الذين يحتاجون إلى غذاء صحى علاجي منعش، مرطب وفاتح للشهية. لذلك توصل البحث الذى قام به Malak et al. (2000) إلى إمكانية إدخال بعض زيوت الأعشاب الطبية العلاجية (التيليو، الينسون، الفليا، الكراوية) فى تصنيع اللبن الزبادى المدعم بسلالة البيفيدوباكتيريم بيفيديم بجانب بكتيريا البادىء، وقد أظهرت الدراسة أن التركيزات المثلى للإستخدام كانت ٠,٠٤، ٠,٠٢، ٠,٠٥، ٠,٥٪ (حجم/حجم) بالترتيب على التوالى. وقد أعطت هذه التركيزات فى المنتج معدلات كبيرة فى المحتوى من الأسيتالدهيد والبيتاجالاكتوسيديز وكذلك الأحماض العضوية الكلية. كما أعطى هذا التدعيم فوائد إضافية للبن الزبادى ليس كونه ذو قيمة علاجية وإنما إمتد إلى تنشيط نمو سلالة البيفيدوباكتريم بيفيديم فى اللبن. وكان تقييم الخواص العضوية الحسية فى صالح اللبن الزبادى المدعم بالتيليو والينسون يليه المدعم بالفليا والكراوية مقارنة باللبن الزبادى الخالى من تلك الزيوت .

ومن ناحية أخرى فلقد أوضحت الدراسة المتكاملة على تصنيع الزبادى الداعم حيوياً وكذلك مدى تضاده تجاه الميكروبات المرضة بواسطة Abd El-Rahman et al.(2002) و Kheadr et al.(2002) حيث قامت هذه الدراسة على إستخدام لبن خلل به اللاكتوز جزئياً (٤٢٪ من اللاكتوز الأصلى) لتصنيع اللبن الزبادى ببادىء محتوى على أنواع مختلفة من البيفيدوباكتيرم ثم تقييم الزبادى المصنع من لبن معامل أو غير معامل بإنزيم البيتاجلاكتوسيديز فى وجود بادىء الزبادى *Streptococcus thermophilus* و *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* وزبادى مضاف إليه سلالة مفردة من البيفيدوباكتيريم الأربعة التالية: *Bif. longum* و *Bif. bifidum DSM BB12* و *Bif. bifidum DSM 20456* و *Bif. infants*

وذلك خلال ١٥ يوم تخزين فى الثلاجة أضيف البادىء إلى اللبن بنسبة ٢٪ (حجم/حجم)
وكان خليط البادىء .Bifidobacterium ssp : Str. thermophilus : Lb. bulgaricus
بنسبة ٢ : ١ : ١

وقد أظهر الزبادى المصنع من لبن متحلل اللاكتوز درجة حموضة أعلى وقيم أقل من تلك المصنع من لبن غير متحلل. وكذلك الزبادى المصنع من لبن متحلل اللاكتوز أظهر قيم أسيتالدهايد وتيروسين ذائب أعلى ومحتوى لاكتوز ونشاط لإنزيم اللاكتيز أقل من الزبادى المصنع من لبن غير متحلل اللاكتوز. وقد بين التقييم الحسى أن الزبادى المصنع فى وجود *Bif. bifidum* او *Bif. longum* اخذت درجات تحكيم اعلى لكل من النكهة والقوام والمظهر العام بينما عينات الزبادى القياسية والمصنعة من *Bif. infants* اخذت درجات تحكيم أقل حيث أظهرت عيوب للطعم. كما أظهرت النتائج أنه بعد يوم تخزين لعينات الزبادى كانت حيوية بكتيريا الزبادى أعلى فى حالة اللبن المتحلل اللاكتوز وأن الإنخفاض التدريجى فى إعداد البيفيدوباكتيريا كان أسرع فى اللبن المصنع من لبن متحلل به اللاكتوز. ايضا إتضح ان *Bif. longum* أظهرت أعلى معدل حيوى فى أنواع الزبادى المخزن. كذلك عينات الزبادى المضاف إليها سلالات البيفيدوباكتيريا بينت أنشطة مختلفة مضادة للميكروبات المرضة حيث أظهر الناتج المتعادل المحضر من الزبادى المتحلل به اللاكتوز تثبيطاً أكبر من ذلك المحضر من الزبادى الغير متحلل به اللاكتوز، كما أن عينات الزبادى المحتوية *Bif. bifidum* 20456 ثبطت كل من الأجناس المرضة *Psd. aeruginosa* و *Staph. aureus* و *E. coli* و *Ba. subtilis*، كما أن عينات الزبادى المضاف إليها BB12 *Bif. bifidum* و *Bif. longum* ثبطت كل من *Staph. aureus* و *Ba. subtilis* بينما العينات المضاف إليها *Bif. infants* ثبطت فقط *Staph. aureus*. هذا وقد أظهرت كل الأنواع عدم وجود فعل مثبط تجاه كل من *Sall. typhimurium* و *Ba. cereus* و *Candida albicans*. وهذه النتائج تأكيداً لما قام به (Khedkar et. al.1998) عن تضاد جنس *Bifidobacterium* ضد *E. coli* و *Shigella* و *Staph. aureus* و *Bacillus cereus* و *Salmonella* و *Pseudomonas* فى حال إستخدام السلالة المعزولة من طرز إنسانية.

٣- الجبن الداعم حيوياً Probiotic cheese

٣-١ الجبن الجاف ونصف الجاف الداعم للحيوية

Probiotic hard and semi-hard cheese

إذا كانت الغالبية العظمى من منتجات الألبان الداعمة للحيوية من الألبان المتخمرة والزبادى والمنتجات اللبنية الطازجة كالمشروبات فهى غالباً ماتستهلك خلال بضعة أيام أو بضعة أسابيع. وعلى النقيض فالجبن الجاف مثل جبن التشيدر والتى تحتاج وقت طويل لتسويتها والتى قد تصل إلى أكثر من سنتين فى بعض الأحيان تستهلك مسواة. الجبن التشيدر كأحد أمثلة الجبن الجاف ربما يقدم بعض المميزات المهمة والتى تفوق منتجات الزبادى والمنتجات الشبيهة والخاصة بصفة الدعم الحيوى ومن هذه المميزات إنخفاض الحموضة مقارنة بالزبادى وكذلك المحتوى الدهنى العالى والقوام للجبن، كل هذه المميزات ربما تقدم حماية للميكروبات الداعمة للحيوية خلال مرورها فى القناة الهضمية. هذا بالإضافة إلى أن الجبن أكثر إستساغة وقد تؤكل يومياً مما يوفر جرعة يومية من السلالات الداعمة للحيوية من أجل زيادة معدلات تواجد أو حيوية تلك السلالات. الشىء الآخر الذى يضاف إلى مميزات إنتاج الجبن الجاف مثل التشيدر هو سعة إنتشاره فعلى سبيل المثال فى إيرلندة إنتاج الجبن التشيدر عام ١٩٩٧م فاق ٧٠ الف طن مما يعنى أن إدخال وتطوير الجبن التشيدر الداعم للحيوية سيقود إلى منفعة إقتصادية صحية هائلة.

قليل من الأبحاث تناولت صناعة الجبن الجاف الداعم للحيوية والمحتوى على سلالات الدعم الحيوى *Lactobacillus and Bifidobacterium*، وربما يكون من أوائل الأبحاث الحديثة التى تناولت إمكانية إدخال تلك السلالات الداعمة حيوياً فى الجبن التشيدر بنجاح هما (Dinakar and Mistry 1994) حيث إستطاع الجبن التشيدر أن يحتجز معدلاً لحيوية خلايا البيفيدوباكتيريا لمدة أكثر من ٢٤ أسبوع بمعدل ٢ × ١٠^{٧} خلية لكل جرام بالإضافة إلى عدم التأثير على النكهة والقوام والمظهر العام.

وفى دراسة اخرى لـ (Gardiner et al.1998) تم متابعة حيوية بعض السلالات الداعمة للحيوية التى تشمل *Lactobacillus salivarius and Lb. paracasei* والمعزولة من طرز إنسانية والتى صنفت وعرفت بإنتمائها للسلالات الداعمة حيويا (Collins and Thornton, 1998) عند تصنيع الجبن التشيدر وتم متابعة تلك

المعدلات لمدة أكثر من ستة شهور حيث إحتفظ الجبن بتلك المعدلات الداعمة للحيوية (أكثر من ١٠^٧ خلية لكل جرام جبن) من خلال فترة التسوية الكلية والتى بلغت ثمانية أشهر ونصف على ٨°م. وعليه فقد تم التأكيد بحثيا من إمكانية إنتاج جبن تشيدر داعم حيويا (Sieber and Schluep, 1998). كذلك أمكن لـ Gardiner ان يصنع الجبن التشيدر من لبن فرز متخمرمجفف بنفس السلالة السابقة كـ Adjunct (Gardiner, 2002).

وفى دراسة اخرى قام بها (Gomes et. al.1998) على تتبع حيوية وتواجد الـ *Bifidobacterium lactis* و *Lactobacillus acidophilus* فى تصنيع الجبن الجودا Gouda خلال تسعة أسابيع من التسوية على ١٣°م حيث كان المعدل النهائى للتمليح تراوح بين ٢-٤٪ (وزن/وزن)، وقد قلت حيوية كلاً من السلالتين الداعمتين حيوياً خلال الثلاثة أسابيع الأولى تبعها إنخفاض شديد فى نهاية فترة التسوية. ولقد كان الإنخفاض شديداً فى الأجزاء الخارجية من أقراص الجبن عنها فى الأجزاء الداخلية منها، هذا وكان من أهم نتائج هذا البحث العلاقة الشديدة الصلة بين تركيز الملح داخل الجبن وبين حيوية وتواجد السلالات الداعمة حيوياً محل الدراسة. وأيضاً خلص البحث إلى الربط بين الحيوية ووقت الإستهلاك للجبن. ولعل تلك النتائج تأكيداً لما قدمه (Gomes et al.1995) من إمكانية تصنيع الجبن الجودا الداعم للحيوية.

وفى دراسة إيطالية على جبن Crescenza cheese بواسطة (Gobbetti et. al.1998) حيث تم إستعمال الأنواع الداعمة حيويا *bifidum, infantis and longum* للجنس *Bifidobacterium* فى التصنيع للجبن سواء بطريقة مفردة أو توليفات منهم وذلك فى صورة حرة وصورة مثبتة داخل كريات من الجينات الصوديوم (المحبوس من الخلايا ١٠^٦ خلية حية لكل مل من اللبن المصنع منه الجبن). ولقد أوضحت الدراسة إختلاف الحيوية والتواجد لأنواع البيفيدوباكتيريا المستعملة خلال ١٤ يوما من عمر الجبن. وعندما أضيفت السلالات مفردة فلقد زادت الأعداد إلى ١٠^٦ ، ١٠^٧ خلية حية لكل جرام جبن بالنسبة لأنواع

bifidum و *longum* (بالترتيب على التوالى) بينما إنخفضت إلى ١٠^٥ خلية حية لكل جرام جبن بالنسبة للنوع *infantis*. وعند إستعمال توليفات من السلالات للأنواع السابقة وصل العدد إلى ١٠^٥ خلية حية/جرام جبن. وجود جنس الـ *Bifidobacterium* لم يتأثر بالميكروبات الهوائية المتواجدة. فى حين أن الجبن إحتوى فقط على متبقيات من اللاكتوز وإرتفاع طفيف فى تركيز حمض اللاكتيك والخليك. كما أرجعت الدراسة أسباب وجود وحيوية البيفيدوباكتيريا إلى المحتوى العالى من إنزيم α,β-galactosidase، واوضح الإختبار الحسى للجبن المحتوى على *Bifidobacterium* عدم وجود فروق جوهرية بين الجبن المعامل والجبن المصنع بالطريقة التقليدية.

هذا ولم تقتصر محاولات إستخدام الجبن الداعم للحيوية من اللبن البقرى أو اللبن الجاموسى، ولكنها أيضاً إمتدت إلى إدخال صفة الدعم الحيوى للأجبان المصنعة من لبن الماعز Goat milk (Gomes and Xavier, 1998) حيث تمت تلك التقنية مع جبن Oueijo de cabra وهو من أشهر الأجبان النصف جافة والمصنعة من لبن الماعز فى البرتغال، ولعل إختيار مثل هذا الصنف من الجبن لما يتمتع به من نسبة رطوبة عالية كما أن عمليات الضبط الحرارية والتقطيع والتقلب للخثرة تكون سريعة مما يتيح ضبطاً كبيراً لمعدلات نمو السلالات الداعمة حيوياً فيه وهى *Bifidobacterium lactis* و *Lactobacillus acidophilus*. هذا ولقد افادت نتائج هذه الدراسة بأن Bif. lactis قد إستطاعت النمو بصفة متزايدة قليلاً حتى وصلت إلى حد اكبر من ٣ × ١٠^٨ خلية/جرام جبن (من أصل ٣ × ١٠^٧) ولكن هذا النمو كان معتمداً على الخواص الطبيعية والكيماوية للجبن خلال ٧٠ يوماً من التسوية. بينما زادت خلايا *Lb. acidophilus* فى الجبن ولم يتعد أقصى حد لها عن ٦ × ١٠^٧ خلية حية/جم جبن (من اصل ٧ × ١٠^٦ خلية حية/مل لبن مصنع). وعلى الرغم من أن تركيزات حمض اللاكتيك والخليك تزايدت خلال تصنيع الجبن بيد أن ذلك لم يكن مؤثراً على نمو البيفيدوباكتيريا حيث إحتفظت دائماً بالحد الأعلى من الحد الفاصل للفعل الداعم حيوياً (١٠^٦ خلية حية/جم) لإحداثه. كما أشار البحث أيضاً إلى أن معدلات التحلل البروتينى كانت كبيرة جداً ولكن معدلات التحلل الدهنى lipolysis لم تتأثر بشدة.

وفى دراسة مصرية على إمكانية إستخدام البيفيدوباكتيريا فى تصنيع الجبن الراس Ras cheese الأكثر إنتشاراً، إقترح (El-Sayed 1998 a,b) إمكانية تطبيق تصنيع الجبن الراس بمحتوى عالٍ من الخلايا الحية من *Bifidobacterium* Bb-12 تصل إلى حوالى ١٠^٧ خلية حية لكل جرام جبن وإستطاعت السلالة الإحتفاظ بمعدل الدعم الحيوى (١٠^٦ خلية حية/ جرام جبن) حتى عمر ٣ شهور من التخزين.

٣-٢ الجبن الطرى الداعم للحيوية Probiotic soft cheese

لقد تطورت الصناعات اللبنية بإدخال السلالات الداعمة للحيوية من طرز معوية إنسانية خاصة فى المنتجات اللبنية المتخمرة الأقل حموضة من الزبادى ومشابهاته. ولعل محاولات (Dinakar and Mistry 1994) فى تصنيع الجبن التشيدر كان مشجعا على إستخدام السلالات الداعمة حيويا فى أنواع أخرى من الجبن. ولعل حساسية البيفيدوباكتيريا تجاه الحموضة تحد من حيويتها ومقدرتها على البقاء فى مستويات عالية من الحموضة أو إستخدامها فى منتجات حامضية اصلاً (Reuter, 1990). ولهذا فكثيراً من الفقد فى الحيوية لخلايا البيفيدوباكتيريا كان ملاحظا فى الألبان المتخمرة عنها فى غير المتخمرة (Hughes and Hoover, 1995). فلتشجيع إنتاج سلالات الدعم الحيوى فى إنتاج الجبن الطرى تدعيماً لإثراء الإتجاه البحثى فيها نظراً لمحدوديته (Tamine et. al., 1995) وفى تجربة لإمكانية الحصول على تواجد جيد وحيوية عالية للبيفيدوباكتيريا فى الظروف المختلفة لتصنيع الجبن سواء بالتنفيح Renneting أو التحميض المباشر فقد توصل (Roy et. al.1995) إلى ان اللبن المتجبن بالمنفحة لم تتغير أعداد البيفيدوباكتيريا خاصة انواع *bifidum* و *breve* و *infantis* و *longum* عنها فى اللبن المصنع منه الخثرة أما فى خثرة الجبن المصنع بالتحميض المباشر فلوحظ ان نوع *breve* إحتفظت بأعلى مستويات من التواجد عن باقى الأنواع وكذلك إحتفظت بأعلى معدل من الحيوية عند إستخدام Glucono delta lactose (GDL). ويوضح جدول (٥) تلك الحيوية مع الظروف المختلفة لتصنيع الجبن. بينما توصل (O'Riordan and Fitzerald 1998) إلى ان الجبن الكوخ Cottage المصنع بإستخدام

سـلالات *Bif. Infantis and Bif. Breve* إسـتطاعت ان تقلـل جـدأ مـن تواجـد *Pseudomonas* sp. كما إستطاعت ان تحتفظ بمعدلات متفاوتة خلال تخزين الجبن فى جو مبرد، لكنها إحتفظت بالمعدلات الداعمة للحيوية. أيضاً فـى محاولـة Blanchette (et. al.1996) لإنتاج الجبن الكوخ Cottage الداعم للحيوية وهو من الأجبان المشهورة فى شمال امريكا ويؤكل بصفة مستمرة نظراً لقلة محتواه الدهنى، وأنه يحوى القليـل جـدأ مـن بكتيريـا حمـض اللاكتيـك – وإن إحتـوى – فغالبيتهـا تبـاد مـع طـبخ الخثـرة عنـد إستهلاكها. وعليـه فـإن عـدم تعـرض الجبن لزيـادة الحموضـة Postacidification فإنها تكـون مثلـى لنمـو البيفيـدوباكتيريا. ولقـد قامـت الدراسـة علـى إضـافة قشـدة متخمـرة بالبيفيـدوباكتيريا عنـد كـبس الخثـرة وخاصـة *Bif. Infantis*. واوضـحت نتائجهـا أنـه بتخزين هذا الجبن كانت حيوية البيفيدوباكتيريا عند الحدود الداعمة حيوياً لمدة ١٠ – ١٥ يوم كما إحتفظت السلالة بقوتها الحيوية حتى ٢٨ يوم من التخزين.

جدول (٥): التواجد البكتيرى للبيفيدو باكتيريا خلال نموها فى اللبن تحت ظروف تصنيع جبن مختلفة

Table (5): Bacterial population of bifidobacteria after 16h of growth in milk under different conditions

	Bacterial population (CFU/ml)			
Strain	**Milk**	**Milk +rennel**	**Milk + laclale**	**Milk + GDL**
B.bifidum				
R053	4.0×10^8	9.0×10^8	6.5×10^8	1.1×10^8
R054	5.0×10^8	7.8×10^8	4.1×10^8	4.6×10^8
R075	4.9×10^6	2.8×10^6	7.0×10^5	1.7×10^4
R071	1.8×10^8	2.4×10^8	2.2×10^8	1.5×10^8
B.breve				
R019	1.1×10^9	1.6×10^9	5.1×10^8	4.1×10^8
R070	2.2×10^9	1.9×10^9	1.7×10^9	3.2×10^8
R170	2.6×10^9	2.2×10^9	1.4×10^9	1.6×10^9
R171	9.7×10^8	1.5×10^8	9.4×108	2.7×10^8
B.infantis				
R031	1.8×10^9	9.8×10^8	6.2×10^5	3.9×10^7
R033	5.9×10^8	6.7×10^8	8.4×10^6	3.5×10^7
R034	5.3×10^8	1.6×10^8	1.7×10^8	4.7×10^7
B.longum				
R023	1.0×10^9	1.8×10^9	3.6×10^8	3.4×10^7
R046	3.0×10^6	4.2×10^6	2.9×10^6	6.9×10^6
R069	7.7×10^7	1.2×10^8	2.3×10^7	2.8×10^5
R174	1.1×10^8	2.3×10^9	8.9×10^9	1.9×10^7
R175	1.5×10^9	2.2×10^9	6.2×10^8	9.7×10^7
B. animalis				
R173	8.2×10^8	1.8×10^9	6.6×10^7	3.1×10^7
B.adolescentis				
R017	2.0×10^5	1.7×10^4	5.3×10^5	3.7×10^6
R021	3.5×10^5	1.9×10^5	4.4×10^5	7.3×10^4
R022	1.1×10^4	1.2×10^4	1.4×10^4	2.7×10^4
R024	3.2×10^4	1.9×10^4	1.4×10^5	7.5×10^5

Values are means of 3 replicates

Milk + lactate: pH of milk was adjusted to 5.55 with lactic acid at time 0 h.

Milk + GDL: pH of milk was adjusted to 4.65 with glucono-delta- lactone at time 0 h.

المصدر Milchwissenschaft 50 (3) 1995

وفى مصر يعد الجبن القريش من أقدم وأشهر الأجبان المصرية منذ عهد طويل وأهميته ليس فقط لما يتميز به من قلة محتواه الدهنى وإرتفاع محتواه البروتينى وإنما أيضا لما لمحتواه الميكروبى من تأثير حيوى مفيد لجسم الإنسان. وحديثا أمكن الإستفادة بإنتاج الجبن القريش الداعم حيويا والعلاجى أيضا Caraminative probiotic Kareish cheese بواسطة (El-Nemr et. al. 2003) حيث أمكن تنشيط نمو مزرعة مختلطة (Hansen, Denmark) تحتوى انواع تابعة لكلا من *Bifidobacterium* و *Lactobacillus* فى الجبن القريش بإستخدام مستخلص التيليو Tolu-Balsam extract ذو الفعل العلاجى Caraminative effect بتركيز ٠,٤٪ (حجم/حجم). وعند إستخدام تلك المنظومة Synbiotic فى صناعة الجبن القريش أوضحت النتائج أن الجبن القريش الذى تم تخزينه لمدة ١٥ يوم تزايد محتويات الأسيتالدهايد والأحماض العضوية من جهة، ومن جهة أخرى زيادة أعداد خلايا البيفيدوباكتيريا فى الجبن مما يضمن الفعل الحيوى Probiotic effect، بل وكان الجبن القريش الداعم للحيوية العلاجى أكثر تقبلاً تجاه الخواص الحسية مقارنة بالجبن القريش غير المضاف له مستخلص التيليو وكذلك الجبن القريش بإستخدام البيفيدوباكتيرم فقط.

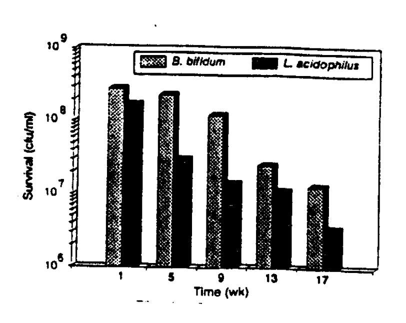
أيضا وفى دراسة أخرى لإنتاج الجبن القريش الداعم حيويا ((Abou Dawood 2002) تم تصنيعه من لبن فرز جاموسى ثم أضيف له بادىء *Lactococcus lactis subsp. lactis* بمعدل ٣٪ ثم عومل بإضافة خلايا من *Bif. bifidum* المكبسلة وغير المكبسلة بمعدل ٠,٢٪ وتم تخزين الجبن الناتج على ٥°م لمدة عشرة أيام. وقد أحتفظ الجبن المعاملة بالسلالة الداعمة حيويا بأعداد اكثر من $١٠^{٦}$ خلية/جم، هذا ولقد أوضحت الدراسة إلى أن حيوية هذه البكتيريا سواء مكبسلة أو غير مكبسلة بالجبن القريش يمكن إستخدامها كغذاء داعم للحيوية.

٤- المثلوجات اللبنية الداعمة للحيوية

Frozen probiotic dairy products

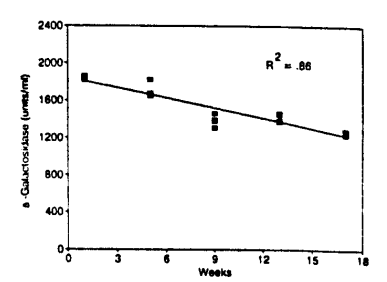
لما كان التفكير فى توسيع قاعدة المنتجات اللبنية المدعومة بسلالات *Bifidobacterium* لمحاولة نشر الدعم الحيوى Probiotic effect، وإستفادة المستهلك بتلك المميزات خلال أكبر قدر من المنتجات اللبنية خاصة المثلوجات اللبنية لما لها من قبول وإنتشار واسع لدى المستهلكين قد يفوق منتجات لبنية أخرى (Sandine, 1979 and Mashayekh and Brown, 1992)، وعليه فقد إتجهت الأبحاث إلى الكشف عن إمكانية إنماء سلالات مختلطة من *Lb. acidophilus and Bif. bifidum* فى المثلوجات اللبنية بمعدلات تضمن الفعل الداعم للحيوية. ففى دراسة لـ (Hekmat and McMahon 1992) اوضحت إنتاجية الأيس كريم بتلك السلالات الداعمة حيوياً إحتفاظها بالمعدلات الداعمة حيويا خلال ١٧ أسبوع تحت درجة -٢٩°م وكان مخلوط المثلوج عند تحضيره يحتفظ بمعدل pH يتراوح مابين ٥ - ٦ كما تم تدعيم المخلوط بالفراولة ولاقى هذا الأيس كريم إستحسانا من لدى ٨٨ محكم. ويوضح شكل (٦) معدل حيوية وبقاء السلالات السابقة خلال فترة التخزين لمخلوط الأيس كريم ومدى إرتباطه لمعدلات نشاط إنزيم β-galactosidase لنفس المخلوط خلال نفس الفترة.

وفى دراسة أخرى مشابهة لإستخدام نفس السلالات السابقة فى مخلوط مزدوج من الأيس كريم والزبادى Yoghurt icecream، اوضح (Otero et. al.1996) أن ٨٪ من *Lb. acidophilus* و *Bif. bifidum* (١ : ١) قد تم تلقيحها فى مخلوط قياسى من الأيس كريم بعد أن يصل العدد أولاً بمخلوط الزبادى حتى ١٠° خلية/جرام ثم يخلطا ويدعما بنكهات الليمون والبرتقال والفراولة. بينما تم إنتاج مخلوطاً آخر بنفس السلالتين بعد التحميض المباشر بهما للمخلوط حيث إحتفظ المخلوط بالمعدلات الداعمة للحيوية خلال ٨ أسابيع على -١٨°م (Younis et al., 1998).



شكل (٦أ): حيوية الخلايا الداعمة الحيوية بالمثلوج اللبنى

Figure (6)A: Mean survival of lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium bifidum in fermented ice cream over 17 wk of frozen storage.



شكل (٦ب) تأثير التخزين على الأجناس الداعمة حيويا تجاه تحليل اللاكتوز إنزيميا

Figure (6)B: Effect of frozen storage on β-galactosidase activity in ice cream fermented to pH 5 with Lactobacillus acidophilus and Bififobacterium bifidum.

وفى توجه آخر لـ (Hagen and Narvhus 1999) لإنتاج أيس كريم داعم للحيوية حيث استخدم *Lb. reuteri* و *Lb. acidophilus* و *Lb. rhamnosus* وكذلك *Bif. bifidum* حيث تم تنمية تلك السلالات فى لبن نصف فرز معامل بالحرارة العالية UHT semi-skim milk حيث تم دعمه بـ ١٪ جلوكوز و ١٪ تربتون ثم تم إضافة البادىء بنسبة ١٠٪ لمخلوط الأيس كريم. هذا وكشفت النتائج إحتفاظ المخلوط بالمعدل الداعم للحيوية لتلك السلالات لمدة ٥٢ أسبوع على -٢٠°م (١٠^٦ خلية لكل جرام).

ومع بزوغ اهمية زيوت الأعشاب الطبيعية كونها لها تأثير علاجى Caraminative effect (Tyler and Robbers, 1999) وإمكانية إستعمالها فى المنتجات اللبنية ليس فقط لإعطاء تلك الصفة وإنما لتنشيط السلالات الداعمة حيوياً (Malak et al., 2000). فقد إتجهت الدراسة التى قامت بها (Gooda et. al. 2002) لإستخدام بعض زيوت الأعشاب الطبيعية للأغراض السابقة بالإضافة إلى أنها من أهم النكهات الخاصة بالمثلوج اللبنى. ولقد أوضحت نتائج تلك الدراسة أن المثلوج اللبنى الداعم للحيوية العلاجى Caraminative probiotic ice milk إستطاع ان يحتفظ بحيوية السلالات الداعمة حيويا بعد ٢٢ يوم من التخزين على -٢٠°م بالإضافة إلى تفوق تلك المنتجات بصورة ملحوظة فى الإختبارات الحسية مقارنة بالمخاليط القياسية.

هذا ولم يقتصر الدعم الحيوى لإنتاج المثلوجات اللبنية فقط فحسب وإنما إمتد إلى إمكانية إنتاج بعض الحلويات المصنعة من المثلوج اللبنى الداعم حيويا Frozen probiotic dairy desserts حيث اشار (Ravula and Shah 1998) فى بحثين منفصلين إمكانية إستخدام سلالة مختلطة من بادىء الزبادى بالإضافة إلى *Lb. acidophilus* و *Bifidobacterium* فى مخلوط من المثلوج اللبنى لإدخالها فى صنع بعض الحلويات تحت ظروف منخفضة من pH والتى عملت لحد كبير على التأثير على معدلات حيوية الـ Bifidobacteria. وكان متوسط الخلايا الحية فى هذه المخاليط حوالى ١٠^٥ خلية حية لكل جرام من المنتج، ولهذا فقد إمتد هذا البحث لدراسة إمكانية المحافظة على هذه الحيوية للسلالات الداعمة حيوياً بإستخدام متحللات الكازين الحمضية

Acid casein hydrolysate وكذلك الحمض الأمينى السيستئين Cysteine، وخلصت النتائج إلى تحسن ملحوظ بمعدلات حيوية وتواجد تلك السلالات الداعمة حيويا فى حالة إستخدام متحللات الكازين والسيستئين.

٥- المنتجات اللبنية المجففة الداعمة للحيوية

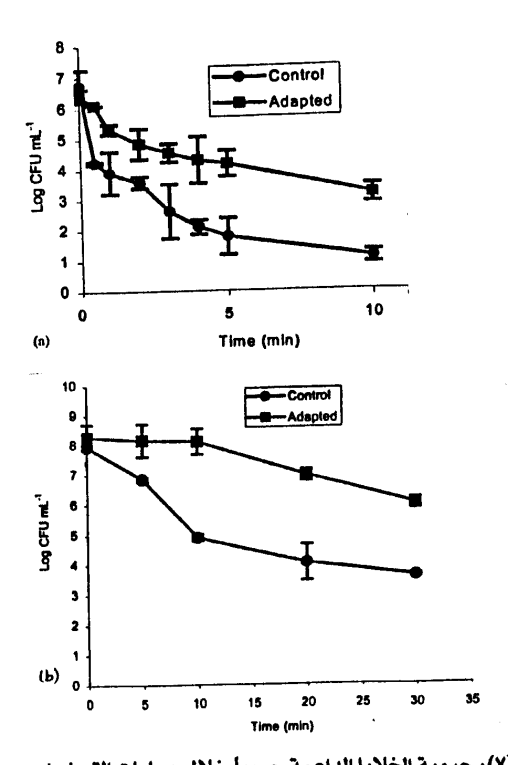
Dried probiotic dairy product

لقد أصبحت السلالات البكتيرية الداعمة للحيوية ذات شهرة واسعة فى المنتجات اللبنية بصفة عامة نتيجة تحسينها للصحة وهو مايتطلب إتساع توزيعها بالأسواق، وكما هو معروف أن أى غذاء داعم للحيوية يتطلب معدلاً لايقل عن 10^7 خلية حية/ جرام او مل من تلك المادة الغذائية عند إستهلاكه، لذا أستوجب على تلك الأغذية إنتشارها بمدة حفظية عالية خلال تصنيعها تجاريا (Knorr, 1998 and Svensson, 1999) وهذا يتطلب مجهودات كبيرة فى الحفاظ على حيوية تلك الخلايا أثناء التصنيع. ولعل التوجه إلى إمكانية تجفيف تلك المنتجات اللبنية الداعمة حيويا قد يكون هو من الحلول المثلى لمرونة إستخدامها بحيوية عالية ولكن كل الأبحاث المرجعية بهذا الشأن قد اكدت نتائجها على مشكلة التأثير الحرارى على الخلايا ومن ثم قدرتها على البقاء (Daemen and Vander Stage, 1982). ثم توالت التجارب فى إمكانية إستخدام طريق التجفيف بالرذاذ Spray drying حيث اشار (Teixeira et. al.1995) إلى ان عملية تجفيف *Lb. acidophilus* اظهرت زيادة حساسية السلالة للـ Lysozyme و NaCl وهو مؤشراً لتحطيم ولو جزئيا فى الجدر الخلوية والأغشية الخلوية، او على نحو آخر حدوث تحطيم فى اجزاء من DNA وكذلك الريبوسومات (Teixeira et al., 1997 and Abee and Wouters, 1999).

ولقد كانت المحاولات الأولية لتحضير الألبان الداعمة حيويا مشجعا لتحسينها مستقبلا، فقد اشار (Nagawa et al. 1988) فى محاولة للحفاظ على الفعل الداعم حيويا للبن السائل لمدة اكبر وأن يكون فى قمة الفعل الحافظ له Optimum preservative حيث تم تجفيف لبن البيفيدس Bifidus المتخمر بإستخدام Freeze drying وذلك بعد

تخزين اللبن ٣٠ يوم على ٣٥°م حيث لم يتعد محتوى الرطوبة ٣,٥٪ وأن محتوى الجرام منه ٦١٠ خلية/جرام.

وفى دراسة اخرى حديثة لـ (Desmond et. al. 2002) خلصت نتائجها إلى حدوث تحسن فى القدرة على تحمل الحرارة Heat tolerance للسلالة الداعمة حيويا *Lb. paracasei* عند تجفيف اللبن المتخمر الذى يحتويها بطريقة الرذاذ Spray وذلك نتيجة التحكم المبدئى فى الثبات الحرارى والملحى والذى ادى بدوره إلى تحسن حيوية الخلايا مقارنة بالظروف غير المتحكم بها كما يوضحها الشكل التالى (شكل ٧). حيث تم إستخدام حرارة ٥٢° م أو٦٠° م / ١٥ دقيقة لتجفيف بيئة الـ MRS المدعومة باللبن الفرز والمحتوى على النمو البكتيرى. ولقد أستخدمت حماية حرارية Thermal protection بإستخدام نظام التأقلم المبدئى بإستخدام فوق أكسيد الهيدروجين ٠,٠٠٣ مول وملحى ٠,٣ مول هيدروكسيد الصوديوم وأملاح صفراء ٠,١٪ (وزن لكل/حجم) حيث أن التحسن الملحوظ فى الحيوية كان بمقدار ١٨ مرة خلال التجفيف بالرذاذ عند حرارة نهائية ٩٥ - ١٠٥°م (التأقلم الحرارى) بينما بالتأقلم الملحى تحسنت الحيوية بمقدار ١٦ مرة مقارنة بالكونترول. ولقد مهدت الدراسة السابقة التى استخدمت البيئة المدعومة MRS باللبن الفرز إلى إمكانية تجفيف بعض السلالات الداعمة حيويا مثل *Lb. paracasei* المعزولة من الجبن التشيدر الداعم للحيوية والمصنع بواسطة Gardiner et al.(1998). كذلك تجفيف تلك السلالة فى اللبن الفرز المتخمر بها بطريقة الرذاذ. وكان معدل دخول الهواء وخروجه على حرارة ١٧٥°م ، ٦٨° م مما أتاح ٨٤,٥٪ من حيوية السلالة. وإحتوى المجفف الناتج على ١٠^٩ خلية حية/جرام وإمكانية إستخدام هذا الناتج كـ Adjunct لتصنيع الجبن التشيدر الداعم للحيوية (Gardiner et al., 2002).



شكل (٧): حيوية الخلايا الداعمة حيويا خلال عمليات التجفيف حسب مصدرها

(a) Survival of heat-adapted (52 C for 15 min) and control (unadapted) L. paracasei NFBC 338 in MRS medium at 60 C. resultsare the mean of duplicate heat challenge experiments.

(b) Survival of heat-adapted (52 C for 15 min) and control (unadapted) cells of L.paracasei NFBC 338, heated in RSM (20% W/V) at 60 C Results are the mean of duplicate heat challenge experiments.

(C. Desmond et al. International Dairy Journal II (2001) 801 – 808)

٦- النظرة المستقبلية للأغذية اللبنية الداعمة للحيوية

Technological challenges for future probiotic dairy products

نظراً للفوائد الصحية الكبرى المؤثرة على التوازن الميكروبى للأغذية الداعمة حيويا حسبما اشار لها (Fuller 1989) مسبقا مما شجع بقوة على دعم تلك السلالات الميكروبية الداعمة للحيوية فى الأغذية خاصة اللبن الزبادى والألبان المتخمرة المدعومة بـ *Lactobacillus acidophilus* و *Bifidobacterium* فى الحقبة الماضية (Daly and Davis, 1998). ومن الإتجاهات الكبرى لتطوير الأغذية الداعمة للحيوية هى إحتوائها على كل من الدعم الحيوى probiotics ومحفزات هذا الدعم prebiotics والتى من شأنها تحسين الفلورا المعوية فى القناة المدمعوية مما يدعم مقاومتها للبكتيريا الممرضة.

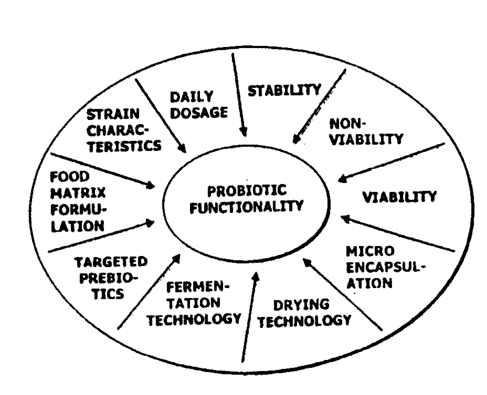
وقبل أن يُحدث الدعم الحيوى فوائده فى الأغذية المحتوية عليه فإنه لابد أن يتمتع ببعض الخواص منها الخواص التكنولوجية الجيدة وانه يمكن أن يُدعم فى الغذاء بمعدل حيوية يضمن حدوث الأثر الحيوى المنشود بالإضافة للنكهة والقوام الجيدين، كما لابد وأن يقاوم الظروف المعوية الصعبة من زيادة الحموضة ومجابهة أملاح الصفراء ونواتج التمثيل الميتابوليزمى وغيرها كما سبق ذكره، حيث تصل إلى أماكن إستيطانها لإحداث الأثر الداعم للحيوية. وحديثا تم الإشارة إلى أن تلك الخواص لتلك الأغذية لابد وأن يكون معدلات امان وخواص تكنولوجية جيدة والمقصود بالأمان Safety هو سلامة القناة المدمعوية وأن تكون غير ممرضة ومقاومة للمضادات الحيوية ولها معدلات حيوية عالية ولها حث مناعى جيد (Mattila-Sandholm et al., 1999 and Saarela et al., 2000).

٦-١- إنتخاب وإنتاج المدعمات الحيوية

الحيوية ومعدلات البقاء الجيدة هى من اهم شروط إنتخاب وإنتاج المدعمات الحيوية لإحداث الفعل الحيوى نفسه Probiotic effect بالحصول على معدلات كبيرة من إعداد الخلايا فى المنتج. وليس من الضرورة أن تلجأ للمعدلات الحيوية العالية خلال فترات متباعدة من التخزين والشكل التخطيطى التالى يوضح العوامل التكنولوجية المؤثرة

علـــى الأغذيـــة الداعمـــة حيويـــا (شـــكل ٨) التـــى لابـــد أن تؤخـــذ بالإعتبـــار
.(Mattila-Sandholm et al., 2002)

وأيضا أن يتم التحقق من الفوائد الصحية لتلك الأغذية حسبما يشير إليها جدول (٦).



شكل (٨): العوامل التكنولوجيه المؤثرة على وظائف الدعم الحيوى

Fig. (8) Technological factors influencing the functionality of probiotics.

جدول (٦): التأثيرات الميكانيكية الوظيفية للدعم الحيوى

Table (6): Mechanisms of probiotic functionality effects

Mechanisms of functionality	Beneficial
Antimicrobial activity	* Control of rotavirus and Clostridium difficile.
	* Control of ulcers related to Helicobacter pylori
	* Antibiotic therapy
	* Treatment of diambea associated with travel.
Colonization resistance Immune effects	* balancing of colonic microbiota.
* Adjuvant effect	Vaccine adjuvant effect
* Cytokine expression	
* Stimulation of phagocytosis by peripheral blood lcucocytes	* enhanced immune response
* Secretory IgA	* enhanced immune response
Influence on enzyme activity	* reduction of fecal enzymes implicated in cancer initiation
	Reduction of serum cholesterol
Enzyme delivery	Amelioration of lactose malabosorption symptoms.
Antimutagenic effects	
Antigenototoxic effects	

المصدر: Zubillage et. al (2001)

وتحديداً لابد أن يتم إتباع البحث عن العوامل التالية عند إنتخاب وإنتاج المدعمات الحيوية.

١- تحمل حموضة العصير المعدى.

٢- تحمل عصارات الصفراء.

٣- الإلتصاق الجيد بالخلايا الطلائية لإحداث الأثر المقاوم للبكتيريا الممرضة.

٤- الحث المناعى.

٥- القضاء الطبيعى تجاه البكتيريا الممرضة والمواد المسرطنة.

كما يجب أن يؤخذ بالإعتبار الخواص الحسية الجيدة ومقاومة الفيروسات والحيوية خلال التصنيع وثباتها فى المنتج خلال فترة التخزين (Fondén et al., 2000). وحديثاً أمكن تحضيرات معظم السلالات الداعمة حيوياً بصورة مركزة للإستخدام المباشر Direct vat set (DVS) فى التصنيع حيث يعزى لعدم إستخدامها مباشرة صعوبة زيادة الأعداد منها طبيعياً (Honer, 1995).

٦-٢ التداخلات والتفاعلات بين السلالات الداعمة حيوياً وبكتيريا حمض اللاكتيك

يجب الأخذ فى الإعتبار التداخلات بين سلالات الدعم الحيوية وبين بكتيريا البادىء لإعطاء جودة للمنتج. ولقد ثبت فعلياً إمكانية إنتاج منتج لبنى متخمر له خواص حسية ممتازة ومعدلات حيوية عالية للمزارع المختلطة من البادىء وسلالات الدعم الحيوى (Fondén et al., 2000). ولقد تمت دراسات عديدة للحصول على التوليفات الجيدة للإستخدام من قبل (Ishibashi and Shimamura1993) و (Samona et. al. 1996) وذلك لتجنب التأثيرات الجانبية والتفاعلات بين السلالات خاصة التى تتأثر بالنشاط الأيضى Metabolities للبادىء مثل إنتاج حمض اللاكتيك وفوق اكسيد الهيدروجين والبكتيريوسين (Vinderola et al., 2002).

٦-٣ الخواص التكنولوجية للأغذية الداعمة حيوياً مستقبلاً

اوجز (Fondén et al. 2000) تلك الخواص فى:

أ- إنتاج مزارع داعمة الحيوية مركزة تفوق حاجز ١٠^٧ خلية حية/مل مع خواص حسية جيدة على درجة حرارة منخفضة.

ب- إنتاج المزارع بصفة منفردة عن مزارع الزبادى وأن يتم تجنب تثبيط حيويتها من السلالات الأخرى للبادىء.

جـ- أن لاتقل عدد تلك السلالات الداعمة للحيوية عن ١٠^٨ بالمنتج وأن تحفظ على حرارة منخفضة لمدة ثلاثة اسابيع وتعطى نكهة جيدة خلال فترة التخزين.

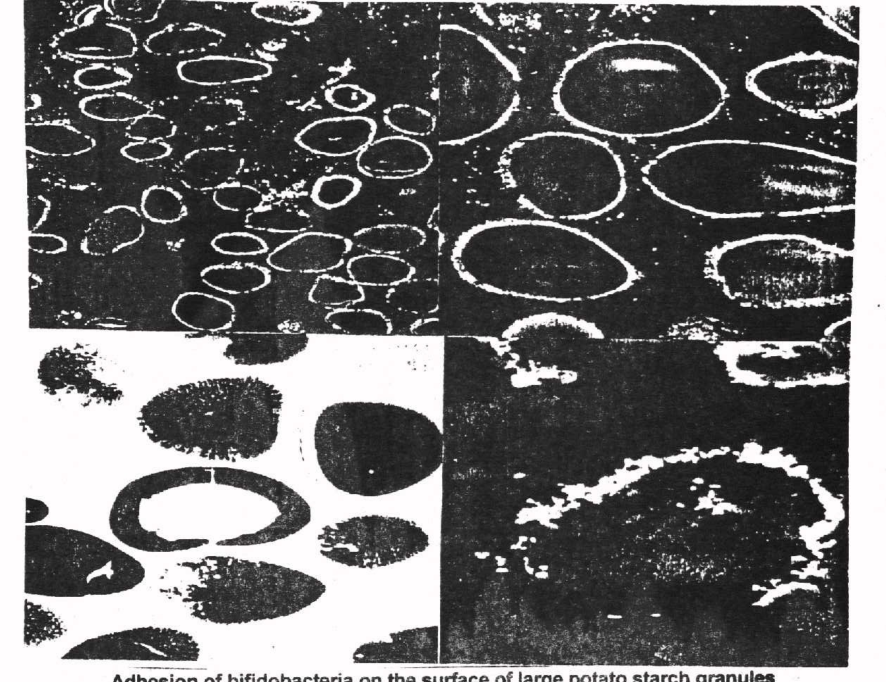
د- ذات ثبات عالٍ ولزوجة مناسبة.

٦-٤- إنتاج السلالات الداعمة حيوياً المكبسلة Encapsulation فى المنتجات

بحثاً عن ثبات الأغذية الداعمة حيوياً فإن تكنولوجيا حبس تلك الخلايا تزيد من ثباتها (Myllärinen et al., 2000). لذا فهو احد الخيارات المستقبلية لإستخدام تلك السلالات فى صورة كبسولات سواء لتصنيع الأغذية منها أو تعاطيها بصورة مباشرة.

٦-٥- تعديل تواجد السلالات الداعمة حيوياً مع بكتيريا حمض اللاكتيك

إن تكنيك الكبسلة لسلالات الدعم الحيوى من خلال الدراسات البيوتكنولوجية خاصة على كابسولات النشا المحتوية سلالات الدعم الحيوى خلال الأربع سنوات الأخيرة أعطى نظرة مستقبلية على ضرورة تعديل الأنواع الجديدة من الأغذية الداعمة حيوياً بضرورة تواجد هذا التكنيك (الكبسلة) وذلك لتنظيم وصولها إلى القناة المعد معوية الحيوية عالية وهذه التكنيك بإختصار يتم إستخدام نشا البطاطس ذو الحبيبات الكبيرة (٥٠ - ١٠٠ ميكرون) والمعاملة إنزيمياً كحوامل للسلالات الداعمة حيوياً وفى النهاية المنتج النهائى مع بيئة النمو تجفف Freeze-dried (Myllärinen et al., 2000). ويوضح شكل (٩) تركيب تلك الحبيبات بالميكروسكوب الألكترونى. وكذلك إلتصاق خلال البيفيدوباكتيريا على أسطح تلك الحبيبات.



Adhesion of bifidobacteria on the surface of large potato starch granules
(DAPI and iodine stain, microscopy cross section, thick 290 x and 725 x (upper panel), 725 x and 1450x).

شكل (٩): التصاق السلالات الداعمة للحيوية على أسطح نشا البطاطس كأحد طرق الكبسلة لها.

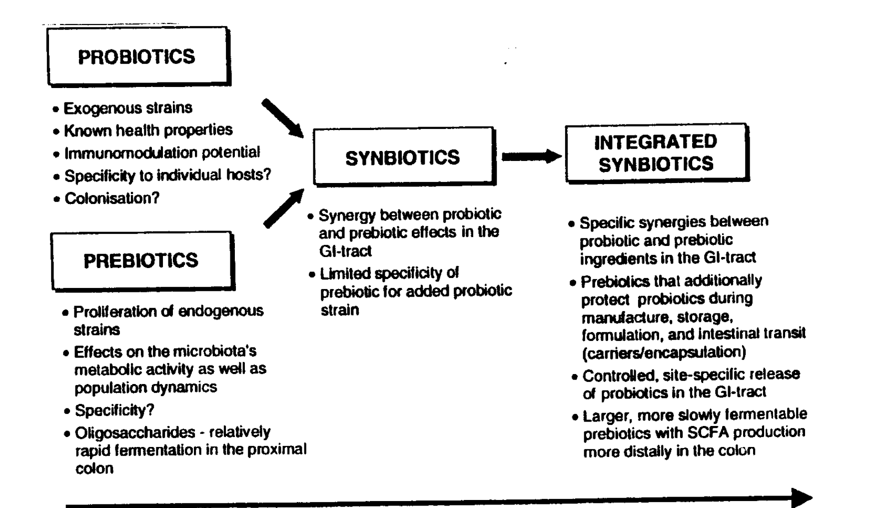
٦-٦- منشطات الدعم الحيوى Prebiotics

يجب الأخذ بالإعتبار ان Prebiotics يجب ان تحسن فعلياً من نمو كلا من السلالة الداعمة حيويا وكذلك سلالة البادىء. لذا يجب التأكيد على تفاعلات كل من Probiotics و Prebiotics لإحداث الأثر المرغوب وهى نقطة بحثية مستقبلية ممتازة. والشكل التخطيطى (شكل ١٠) موجزاً لتلك النقطة لتوضيح تقييم التطوير لتكنولوجيا.

٦-٧- الإتجاهات البحثية للدعم الحيوى

يمكن الإشارة بنقاط محددة أهم النقاط البحثية المستقبلية فى هذا المجال حسبما أشارت بها الأبحاث فى هذا المجال:

- **دراسة ميكانيكية الدعم الحيوى فى القناة المعد معوية وتطوير هذا الفعل كأداة للفعل الحيوى المنشود.**
- **تأثيرات الدعم الحيوى تجاه الأمراض والتلوث والحساسية للقناة المعد معوية.**
- **ثبات وحيوية التقنيات الداعمة حيوياً بتطوير تكنولوجيا الكبسلة للسلالات الداعمة حيوياً.**
- **تطوير تكنولوجيا إنتاج الأغذية الشعبية الداعمة حيوياً.**
- **تقييم الدور الداعم للحيوية فى الصحة والمستهلكين.**



شكل (١٠): التطوير فى الدعم الحيوى والمدعمات والمنظومات المدعومة حيويا

المصدر: Attila – Sandhalm et al. 2002

الباب الثالث

تكنولوجيا إنتاج الألبان المتخمرة والداعمة للحيوية

Technology of Probiotic dairy products production

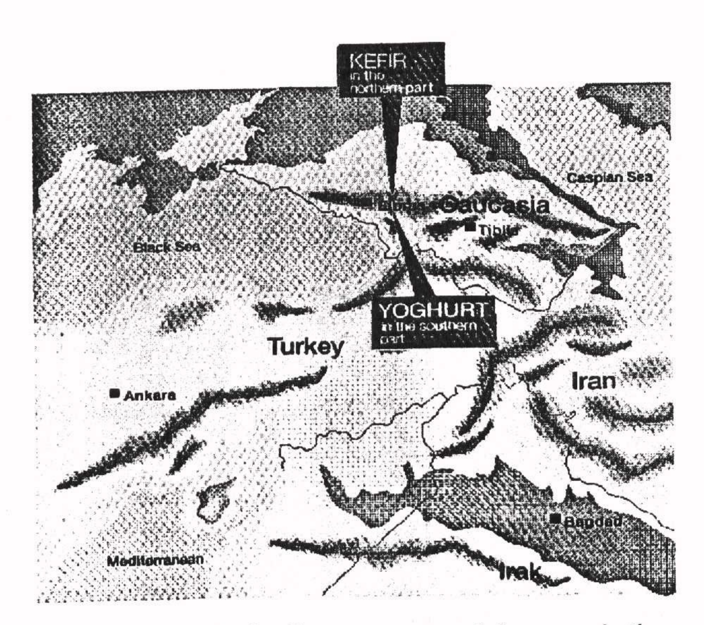


الباب الثالث

تكنولوجيا إنتاج الألبان المتخمرة الداعمة للحيوية

١ - مقدمه

اللبن المتخمر هو ذلك اللبن الذى حدث له تخمر لبعض مكوناته باستخدام الميكروبات النافعة لزيادة فترة حفظة وتكوين مركبات نكهة مميزة ومقبولة وزيادة مقدرة الجسم على الاستفادة من مكوناته. وتعتبر منطقة البلقان من اشهر المناطق التى عرفت باستخدامها للألبان المتخمرة والتى تعتبر الموطن الأصلى لليوغورت.



Mount Elbrus in the Caucasus mountain range is the birthplace of kefir and Youghurt.

البيئة الجغرافية للموطن الأصلى للبن المتخمر

وتعتبر مصر من اقدم البلاد التى عرفت تصنيع الألبان المتخمرة لما وجد من نقوشا على المقابر الفرعونية التى تدل على تصنيع الألبان المتخمرة واستهلاكها. وتتميز الألبان المتخمرة بسهولة الهضم و احتوائها على العناصر الضرورية لجسم الإنسان. وقد زاد من أهمية الألبان المتخمرة خلال القرن العشرين بعد الأبحاث العلمية التى ربطت بين طول فترة العمر بدون أمراض واستهلاك الألبان المتخمرة. وتصنع الألبان المتخمرة فى جميع أنحاء العالم وتتميز كل دولة بمنتج خاص بها مثلا يعرف الداهى فى الهند والاسيدوفليس فى امريكا والكوميس فى روسيا واللبن الرايب فى مصر واللبنة فى بلاد الشام ولكن يعتبر اليوغورت من اشهر الألبان المتخمرة فى جميع أنحاء العالم.

أهمية الألبان المتخمرة:-

١- يحتوى على جميع المواد المكونة للبن فى صورة مركزة.

٢- تخمر اللاكتوز إلى حامض لاكتيك يعمل على تثبيط نمو الميكروبات المرضة كما يساعد الحامض المتكون على زيادة الاستفادة من الكالسيوم والفوسفات وكذلك يعمل الحامض على تنشيط الجهاز الهضمي ومع استخدام البكتيريا الداعمة حيوياً قد تنتج أيضاً الاستيك Acetic اكبر من اللاكتيك ذو الفاعلية فى تثبيط البكتريا المرضة.

٣- تخمر اللاكتوز يقلل من خطر الإصابة بالإسهال الميكانيكي الناتج عن انخفاض نسبة الأنزيم المسئول عن هدم السكر فى جسم بعض الأشخاص و الذى يؤدى إلى الإصابة بالحساسية عند استهلاكهم اللبن السائل.

٤- البكتيريا الموجودة فى الألبان المتخمرة تستفيد من بعض الببتيدات الموجودة فى القناة الهضمية للإنسان وبالتالي تقلل من الإصابة ببعض الأمراض مثل السرطان

٥- تعمل البكتيريا الموجدة فى الألبان المتخمرة على خفض نسبة الكوليسترول فى الدم

٦- نتيجة لنمو بكتيريا البادئ يعمل علي إنتاج بعض الفيتامينات الهامة.

٧- تناول الألبان المتخمرة يؤدى إلى توطين بكتيريا حمض اللاكتيك المفيدة فى الجهاز الهضمي وهذا يعمل على تثبيط فعل البكيتريا التعفنية مما يساعد على منع وتقليل الاضطرابات الهضمية.

اللبن الزبادي هو أحد الألبان المتخمرة المنتشرة فى مصر والأساس فى صناعته هو تجبن اللبن بواسطة عملية التخمر حيث تضاف إلى اللبن بادئات خاصة (ميكروبات نافعة) تحول سكر اللبن (اللاكتوز) إلى حمض لاكتيك وهذا الحمض يرسب كازين اللبن(بروتين اللبن الأساسي) إلى خثره تحتوى بداخلها كل مكونات اللبن مع وجود مواد طيارة تكسب الزبادي الرائحة المميزة المستحبة.

٢- البادئات Starter

تستخدم المزارع الميكروبية التى تعرف باسم البادئات **Starter** فى صناعة جميع أنواع الألبان المتخمرة والعديد من أصناف الجبن فى العالم. وتضاف البادئات إلى المنتجات تحت ظروف تسمح بنموها وبالتالي يكون نتيجة نشاطها الحيوي تخمير سكر اللبن وإنتاج الحامض وبعض مركبات النكهة وتلعب دور كبير جدا فى تكوين قوام ونكهات المنتجات اللبنية التى تضاف إليه. بالإضافة إلى الفعل الحافظ لانخفاض رقم الحموضه pH نتيجة تخمر السكر وتكوين الحامض والبادئات التى تستخدم فى صناعة منتجات الألبان لها صفات مختلفة ولذلك فلابد من معرفة صفات وخواص السلالات الميكروبية التى تستخدم كبادئات وقد تم تقسيم البادئات تبعا لاحتياجاتها الحرارية إلى قسمين رئيسين وهما:

١- محبة للحرارة المتوسطة Mesophillic، درجة الحرارة المثلى لنموها ٢٠-٣٠ °م.

٢- محبة للحرارة المرتفعة Themophillic ودرجة الحرارة المثلى لنموها ٤٠-٤٥ °م.

ويوجد ميكروبات أخرى محبة للحرارة المنخفضة ولكن لا تستخدم كبادئات. ومن الممكن استخدام بادئات تحتوى على خليط من السلالات بعضها محب للحرارة المرتفعة والبعض الأخر محب للحرارة المتوسطة.

والبادئات بصفة عامة يتم تكوينها من اكثر من سلالة تكون إحداها مسئولة عن تكوين الحموضة والأخرى مسئولة عن تكوين مركبات النكهة ويوجد بعض السلالات تستطيع تكوين الحامض ومركبات النكهة فى نفس الوقت مثل السلالة *Lactococcus lactis supsp. diacetylactis* وبالرغم من ذلك فانها غالبا ما تستخدم مع سلالات اخري مثل الـ *Lactococcus lactis supsp. cremoris* كما ان

هنــاك بعــض الســلالات التــي يصــعب تنميتهــا بمفردهــا فــي اللــبن مثــل الســلالة *Leuconostoc citrovorum* والتـي تنمـو بـبطء شـديد فـي اللبن بمفردهـا ولابـد مـن وجود سلالات أخري تكون مسئولة عن تكوين الحامض حتى تشجع نموها. وتعتبر درجة الحرارة والتوازن الملحي من العوامـل الهامـة جدا لنمـو البادئـات. هـذا عـلاوة علـى النظـرة الحديثة لمحاولة تعديل البادئات بأدخال السلالات الجديدة ذات الفعل الداعم للحيوية مثل Bifidobacteria السابق الإشارة إليها.

مصانع منتجات الألبان دائمـا تقـوم بشـراء مخلـوط البادئـات التجاريـة مـن المعامـل الخاصة للبادئـات. وتلك المعامـل تقـوم بتحضير البادئـات مـن سـلالات معزولـة ومنتخبـة ونقية ومعروف خوصها وتستخدم إمكانيات تكنولوجية عالية جدا للحصـول علـى مـزارع ميكروبية جيدة ويتم تجربتها فـي تصـنيع المنتجات اللبنيـة وبعـد الحصـول علـى نتـائج جيدة يتم طرحها في الأسواق. ويوجد لكل منتج لبنـي بادئـات خاصـة لـه وكـذلك يوجـد بادئات لتحسين بعض الخواص المطلوبة مثل تحسين القوام - النكهـة - اللزوجـة. هـذا ويـتم شراء البادئات في إحدى الصور الآتية:-

- سائلة لتحضير المزرعة الأم Mother culture.
- مجمدة وهي عبارة عن مزارع مركزة لتحضير بادئ الصناعة Bulk culture.
- مجفدة وأيضا مركزة في صورة جافة لتحضير بادئ الصناعة.
- مجمدة وهي مزارع مركزة جدا وتوجد في الصورة السائلة وتستخدم مباشـرة بـدون تجهيزات سابقة.

مراحل التنشيط للبادئات Stages of propagation

فـي السـنوات الأخـيرة أمكـن اسـتخدام المـزارع المركـزة المجفـدة مباشـرة في صـناعة المنتجـات اللبنيـة لتحضـير بـادئ الصـناعة و يـتم اسـتخدام المـزارع المركـزة مباشـرة مـع المنتجات بدون أي تحضيرات وأصبحت مـن الطـرق السهلة فـي الاسـتخدام والآمنـة لضـمان عدم تلوث البادئات ببعض الميكروبات الأخرى. ولكن يوجد العديد من المصانع التي مازالت تقوم بتنشيط البادئات بمعرفتها قبل استخدامها في الصناعة ويرجع ذلك بالدرجـة الأولى إلى تقليل التكاليف ولذلك سيتم شرح ذلك التكنيك في تنشيط البادئـات لاسـتخدامها في

الصناعة. وعملية التحضير تستغرق مرحلتين او اكثر للحصول على مزرعة الصناعة كما يلى:-

١- المزرعة التجارية Commercial/Master culture

وهى المزرعة الأصلية وهى تلك الصورة التى يتم شرائها من المعامل المتخصصة لذلك.

٢- مزرعة الأم Mother culture

وهى المزرعة التى يتم تحضيرها من المزرعة الأصلية Master culture ويتم عملية التحضير فى مصانع الألبان. ويتم تحضير تلك المزرعة يوميا ومن اسمها يدل على إنها المزرعة الأصلية لجميع المزارع فى المصانع.

٣- المزرعة الوسطية Intermediate culture

وهى المزرعة الوسطية التى يتم تحضيرها من مزرعة الأم و تحضر بكميات كبيرة نسبيا.

٤- مزرعة الصناعة Bulk Starter

وهو البادئ الذى يستخدم فى الصناعة و يحضر من المزرعة الوسطية بالكميات المطلوب استخدامها فى الصناعة.

٣- تكنولوجيا الصناعة Process technology

تعتبر صناعة البادئات واحدة من أهم الصناعات وكذلك واحدة من اصعب الصناعات فى منتجات الألبان. وجود عيوب فى البادئات يؤدى إلى خسارة اقتصادية كبيرة جدا خاصة للمصانع الكبيرة. ولذلك فلا بد من الاحتراس الشديد فى مراحل الصناعة واستخدام اصناف ومعدات جيدة جدا و لها خواص محدده وثابتة. ولابد من تطبيق قواعد صحية وعمليات نظافة قاسية جدا. والتحكم الجيد فى مصادر الهواء الداخل إلى مصانع تحضير البادئات والذى غالبا ما يحمل معه العديد من الميكروبات الملوثة مثل الخمائر والفطريات وكذلك لابد من التحكم الشديد والقضاء على البكتريوفاج.

مزرعة الأم لابد من تحضيرها فى حجرات معزولة جيدا عن المصنع مع تعقيم الهواء الداخل باستخدام الترشيح على ضغط عالى بدرجة قليلة جدا عن الضغط الجوى العادي. لابد أن يصمم نظام النظافة للأجهزة باحتراس شديد لمنع وجود آثار للمنظفات وكذلك التعقيم الجيد للاماكن التى ستلامس المزارع الميكروبية.

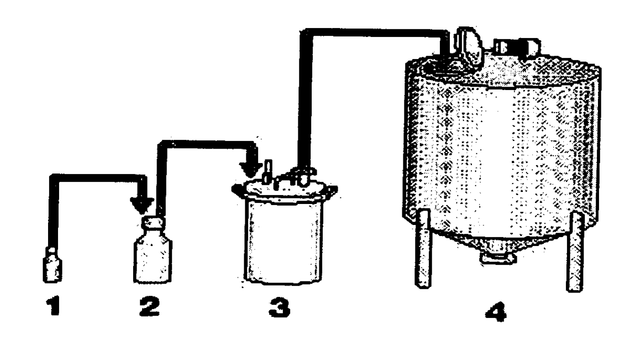
صناعة المزارع الوسطية ومزرعة الصناعة من الممكن تحضيرها فى مكان مغلق قريب من خط التصنيع أو فى نفس الحجرة التى يتم تحضير مزرعة الصناعة بها. جميع عمليات نقل المزرعة إلى المرحلة التالية فى الصناعة لابد من تجهيزها تحت ظروف معقمة جدا.

مراحل الصناعة Stages in the process

الرسم الموضح التالي هو نفس الخطوات التى يتم خلالها إنتاج مزرعة الأم والمزرعة الوسطية ومزرعة الصناعة ويتم تبعا للخطوات التالية:

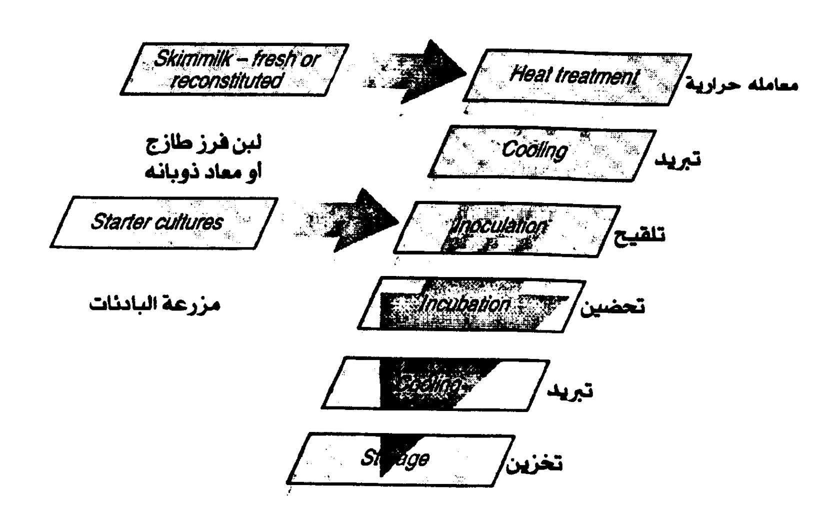
- المعاملة الحرارية للبيئة
- التبريد إلى درجة حرارة التحضين
- التلقيح
- التحضين
- تبريد الناتج النهائي
- تخزين المزرعة النهائية

عادة يتم استخدام اللبن الفرز كبيئة لتحضير البادئات و غالبا ما يتم استخدام لبن فرز معاد ذوبانه بتركيز ٩-١٢٪ جوامد صلبة كلية و لابد من استخدام لبن مجفف له خواص عالية الجودة. ومن الممكن استخدام لبن طازج ولكن لابد من الحصول عليه من مزارع جيدة وأن يكون عالى الجودة. ولابد من التأكد التام من خلو البيئة من المضادات الحيوية. البيئة أيضا ممكن تعديلها عن طريق إضافة بعض منشطات النمو مثل المنجنيز على سبيل المثال ٠,٢ مجم كبريتات منجنيز إلى لتر بيئة والذى يعمل على تنشيط السلالة *Leu. citrovorum* ايضا يمكن تثبيط نمو الفاج بإضافة مصدر للفوسفات والسترات أو أي مواد لها القدرة على خلب الكالسيوم وجعله غير متاح او غير ذائب. حيث أن معظم الفاج (الفيروسات) يحتاج إلى كالسيوم فى نموه. إزالة الكالسيوم من البيئة يعمل على الاطمئنان على نمو بكتريا حمض اللاكتيك بدون مشاكل من ناحية الفاج. ويوجد الآن فى الأسواق اللبن الفرز المجفف المضاف إلية موانع نمو الفاج وذلك لاستخدامها فى تحضير البيئات.



خطوات تصنيع البادئات *Steps in the manufacture of starters.*

1 *Commercial culture* المزرعة الأساسية أو الأصلية
2 *Mother culture* المزرعة الأم
3 *Intermediate culture* المزرعة المتوسطة
4 *Bulk starter* مزرعة الصناعة



Block diagram of starter manufacture

رسم تخطيطى لتصنيع البادئات

٤- المعاملة الحرارية للبيئة Heat treatment of the medium

الخطوة الأولى فى صناعة البادئات هى المعاملة الحرارية للبيئة حيث يمكن التسخين على ٩٠- ٩٥ °م لمدة ٣٠-٤٥ دقيقة ومن الممكن أيضا استخدام التعقيم على ١٢١ °م/١٠ق حيث تعمل المعاملة الحرارية على تحسين خواص البيئة نتيجة:

- القضاء على البكتريوفاج.
- التخلص من العوامل المثبطة لنشاط البادئات.
- التأثير على البروتين وجعله اكثر استفادة بالنسبة للبكتريا.
- القضاء على الميكروبات الموجودة طبيعيا فى اللبن.

١- التبريد إلى الدرجة المطلوبة للتحضين Cooling to inoculation temp.

بعد المعاملة الحرارية للبيئة يتم التبريد إلى درجة الحرارة المثلى للتحضين والتى تختلف باختلاف نوع البادئ المراد تصنيعه. لابد من التأكد أن درجة الحرارة مناسبة لنمو البادئات التى سيتم تحضيرها ولابد من معرفة الدرجة المثلى لنشاط البادئات.

عند تنشيط مجموعة من السلالات، إذا تم استخدام درجة حرارة غير مناسبة لأحد السلالات فإننا سنفقد نموها و بالتالي سنحصل على نتائج غير جيدة. وتعتبر درجة الحرارة المثلى للبكتريا المحبة للحرارة المتوسطة هى ٢٠-٣٠ °م بينما في حالة البكتريا المحبة للحرارة المرتفعة هى ٤٠-٤٥°م.

٢- التلقيح Inoculation

كمية معلومة من البكتريا يتم نقلها إلى البيئة التى عوملت بالحرارة وتم تبريدها إلى الدرجة المثلى لنمو المزرعة. للحصول على المزارع الجيدة وضمان عدم حدوث مشاكل من المهم أن تكون كمية البادئ المستخدم وحرارة التحضين وزمن التحضين ثابت باستمرار ومع جميع مراحل التحضين حتى نحصل على مزارع جيدة باستمرار من يوم لأخر. حيث أن نسبة البادئ المستخدمة يكون لها تأثير على معدل تكوين الحموضة ومركبات النكهة وبالتالي فان اختلافات كميات البادئ المضافة تؤدى إلى الحصول على اختلافات فى

المنتجات المصنعة. وبالتالي فانه لابد من استخدام ظروف ثابتة بعد أجراء التجارب العملية للوصول إلى انسب الظروف التى يتم استخدامها لتحضير البادئات.

٣- تحضين المزرعة

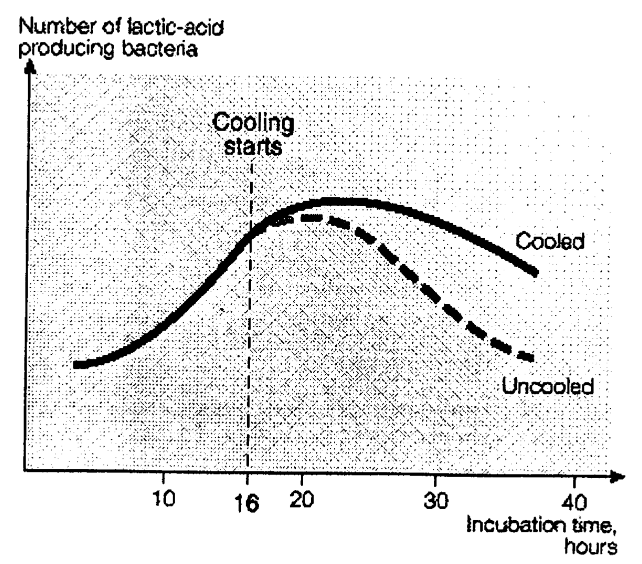
بعد عملية التلقيح مباشرة يتم التقليب الجيد للمزرعة فى البيئة ثم يتم إجراء عملية التحضين فى مدة ٣-٢٠ ساعة على حسب نوع المزرعة- كمية اللقاح - درجة حرارة التحضين ويتم ضبط درجة الحرارة بعناية كبيرة جدا. ولابد من التأكد على عدم وصول أي ملوثات إلى البيئة. خلال التحضين فان البكتريا تقوم بتخمير اللاكتوز إلى حمض اللاكتيك والبادئات التى تحتوى على سلالات تنتج مركبات النكهة مثل الداى استيل وحمض الخليك والبربيونيك والكيتونات والالدهيدات - الكحولات - الاسترات - الأحماض الدهنية وثاني أكسيد الكربون.

٤- تبريد المزرعة Cooling the culture

لابد من التبريد بعد وصول الحموضة للدرجة المطلوبة والهدف من التبريد هو وقف نشاط البكتريا والمحافظة على صفات البادئ فى الصورة الجيدة وكذلك المحافظة على نشاط البادئ والحصول على اكبر عدد للبكتريا الحية.

يمكن حفظ البادئ على ١٠-١٢ °م إذا كان سيتم استخدامها خلال ٦ساعات بينما إذا كان سيتم حفظ البادئ قبل الاستخدام لمدة أطول من ٦ساعات يتم الحفظ على ٥ °م.

فى حالة استخدام كميات كبيرة من البادئ أو فى حالة التصنيع اكثر من مرة فى اليوم الواحد يتم ضبط عمليات إنتاج البادئ للإنتاج كل ٤ ساعات حتى يكون متاح طول النهار فى صورة نشطة ويمكن استخدامه بعد الانتهاء من التحضين مباشرة بدون إجراء عملية التبريد وهذا يسهل من التحضير ويوفر فى تكاليف التبريد.



Growth of lactic-acid producing bacteria without cooling at the end of incubation

نمو بكتيريا حمض اللاكتيك بالتبريد وبدون تبريد فى نهاية التحضين

٥- حفظ البادئات Preservation of starters

هناك أبحاث جيدة تم من خلالها الوصول إلى طرق جيدة لحفظ البادئات بدون حدوث فقد فى نشاطها. من هذه الطرق هى التجميد حيث إن درجة الحرارة المنخفضة تعتبر من الطرق الجيدة لحفظ المزارع. حيث يتم التجميد باستخدام النتروجين السائل -١٦٠°م والحفظ على نفس الدرجة يعتبر جيد جدا. من الطرق الأخرى أيضا عملية التجفيد (تجفيف تحت تجميد)- عملية التركيز أيضا من الطرق التى تم استخدامها بنجاح لحفظ الميكروبات والجدول التالي يوضح بعض خواص المزارع تحت ظروف حفظ مختلفة. حيث أن المزارع المحفوظة تحت تجميد تحتاج إلى حرارة منخفضة بالمقارنة بالمزارع المجفده.

البادئات المحبة للحرارة المتوسطة:

١- بادئات حمض اللاكتيك المحبة للحرارة المتوسطة Mesophilic lactic culture التى تنمو على درجات حرارة ١٠- ٤٠°م والدرجة المثلى هى ٣٠°م وتنتشر استخدامها فى صناعة معظم أصناف الجبن ومن تلك البادئات سلالات:

Lactococcus lactis, lactococcus lactis supsp cremoris & Leuconostoc lactis, Leuconostoc mesenteroides

وغالبا ما تستخدم فى صناعة الزبد والعديد من أصناف الجبن.

٢- بادئات حمض اللاكتيك المحبة للحرارة المرتفعة Thermophilic lactic culture التى تنمو على درجات حرارة ٤٠- ٥٠ °م. ويقع تحتها البكتريا المستخدمة فى صناعة اللبن الزبادي (اليوغورت) وهى من البكتريا متجانسة التخمر وهى السلالتان:

Lactobacillus delbruckii subsp bulgaricus & Streptococcus salivarius subsp thermophilus

وكذلك منها السلالة التى تدخل فى صناعة لبن الاسيدوفلس:

Lactobacillus acidophilus

٣- بادئات حمض اللاكتيك مع السلالات الداعمة حيويا Probiotic السابق الإشارة إليها.

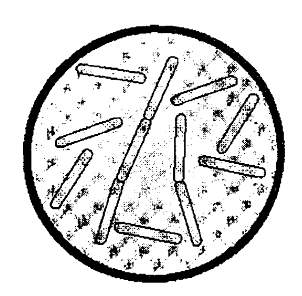
وبادئ الزبادي الذى يتكون من سلالتين تنشأ بينهما علاقة تعاون فى النمو ويلاحظ افضلية تنميتهما معا عن تنمية كل منهما مستقلا ويرجع ذلك إلى ما يمده كل منهما للآخر ببعض منشطات النمو التى يحتاجها الآخر على النحو التالي. مركبات تنتجها *St. thermophilus* وتحتاجها بكتريا *Lb. bulgaricus* حمض الفورميك ومشتقاته وثاني اكسيد الكربون والبيورين والبرمدين بينما البكتريا *Lb. bulgaricus* تنتج مركبات الأحماض الأمينية والببتيدات الناتجة من تحلل البروتين وتحتاجها بكتريا الـ *St. thermophilus* .

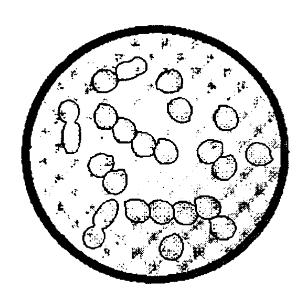
وتعتبر الظروف المثلى لنمو بكتريا البادئ هى ٤٢ ^{o}م وذلك من اجل الوصول إلى اعلى نشاط والمحافظة على نسبة البكتريا الكروية إلى العصوية كنسبة ١:١.

٥- النواتج البيوتكنولوجية المهمة للبادئات

١- إنتاج الحموضة

للبادئات المحبة للحرارة العالية القدرة على إنتاج نسبة عالية من الحموضة فتتراوح كمية حمض اللاكتيك التى تنتجها البكتريا الكروية بين ١,٧ - ١,٨٪ بينما تنتج البكتريا العصوية ٠,٦ - ٠,٨ ٪حمض لاكتيك. وكما ذكر العديد من الباحثين فأن حمض اللاكتيك التى تنتجه البكتريا الكورية من الصورة L (+) بينما تنتج البكتريا العصوية الصورة D (-) و على ذلك فأن الزبادي يحتوى على ٤٥-٦٠٪ من الصورة L (+) و ٤٠-٥٥٪ من الصورة D (-) و قد اقترح البعض إن الزبادي الجيد يحتوى على الصورتين بنسبة متساوية. وعادة فان إجراء التخمر على درجة حرارة منخفضة (اقل من ٤٠ ^{o}م) يؤدى إلى زيادة الصورة L (+) مع تميز الزبادي الناتج بنسبة حموضة منخفضة إما إذا أجري تخمير الزبادي على درجة حرارة مرتفعة (٤٥ ^{o}م او اعلى) فان الزبادي سيحتوى على نسبة من الصورة D (+) اعلى.







Lactobacillus bulgaricus,

Streptococcus thermophilus

Bacteria in youghurt:

بكتيريا اللبن الزبادى

٢- مركبات النكهة Flavor compounds

تنشأ نكهة الزبادي أساسا من حمض اللاكتيك والمركبات الكربونيلية و بعض المكونات الأخرى مثل الأحماض غير الطيارة (حمض البيروفيك والأكساليك والسكسينيك) والأحماض الطيارة (الفورميك والخليك والبربيونيك) لها دور محدد فى تكوين نكهة الزبادي . والمركبات الكربونيلية الموجودة فى الزبادي هى الاسيتالدهيد-الاسيتون والداى استيل.

٣- القوام و تكوين المواد اللزجة Ropiness and consistence

يمكن تحوير القوام وجعله لزجا إذا ما استخدمت السلالات التى لها القدرة على إنتاج السكريات المتعددة. حيث وجد أن بعض السلالات من البكتريا *Lb. delbruckii subsp bulgaricus and st. thermophilus* تنتج هذه المواد وتختلف من سلالة لأخرى ومن غير المعروف كيفية تكوين بكتريا البادئ لهذه المركبات.

٤- القدرة على تحلل البروتين Proteolytic activity

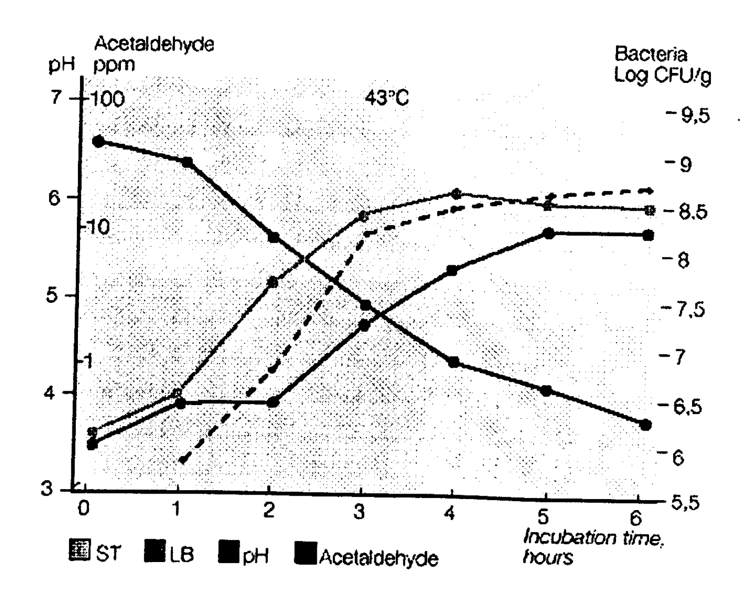
للبكتريا *Lb. delbruckii subsp bulgaricus* نظام إنزيمي قوى لتحليل بروتينات اللبن بعكس السلالة *St. thermophilus* وعلى ذلك فمن المتوقع أن التغيرات التى تحدث فى بروتينات الزبادي ترتبط بنسبة البكتريا العصوية إلى الكروية وما يؤثر فى هذه النسبة سواء أثناء التخمر أو تخزين المنتج وكذلك على نسبة الحموضة فى المنتج.

٥- تحلل الدهن Lipolytic activity

النشاط التحليلي للدهون فى البادئات المحبة للحرارة ضعيف بصفة عامة و معظم الأحماض الطيارة فى الزبادي تنتج غالبا من تخمر مكونات أخرى.

٦- نواتج أخرى

يمكن لبادئات الزبادي استهلاك او تخليق الفيتامينات مثل النيسين وحمض الفوليك وفيتامين B12, B6.



إنتاج مركبات النكهة بالألبان المتخمرة

٦- طرق صناعة الألبان المتخمرة (الزبادى كمثال)

١-استلام اللبن

لابد أن يكون اللبن طازجا حتى لا يتجبن أثناء التسخين كما يفضل اللبن الجاموسى لاحتوائه على نسبة جوامد صلبة عالية مما يعطى للزبادي القوام الجيد والطعم المرغوب فيه. كما يشترط إلا يحتوى اللبن على أي مضادات حيوية تعيق نشاط البكتريا ويصفى اللبن بعد الاستلام بشاش نظيف معقم (ينقع فى ماء مغلي). وعند استخدام اللبن البقرى فيفضل إضافة ٣-٥ ٪ لبن مجفف وذلك لتحسين القوام. وأحيانا يضاف مواد مثبتة للحصول على القوام الجيد خاصة عند استخدام لبن منخفض فى نسبة الجوامد الصلبة أو منخفض فى نسبة الدهن.

٢-المعاملة الحرارية والتجنيس

يتم تسخين اللبن تسخينا غير مباشر بواسطة حمام مائي إلى ٨٥ °م مع التقليب المستمر لمدة ١٥-٢٠ دقيقة. وفى المصانع الكبيرة يتم إجراء عملية التجنيس أثناء المعاملة الحرارية حيث يتم تجنيس اللبن بعد تسخين اللبن ابتدائيا.

ومن الأمور الهامة جدا هى تسخين اللبن عند صناعة الزبادي ويرجع ذلك إلى :-

١- قتل البكتريا المرضة وغير المرغوب فيها.

٢- إحداث تغير مرغوب فى بروتينات اللبن يجعلها اكثر سهولة لاستفادة البادئ.

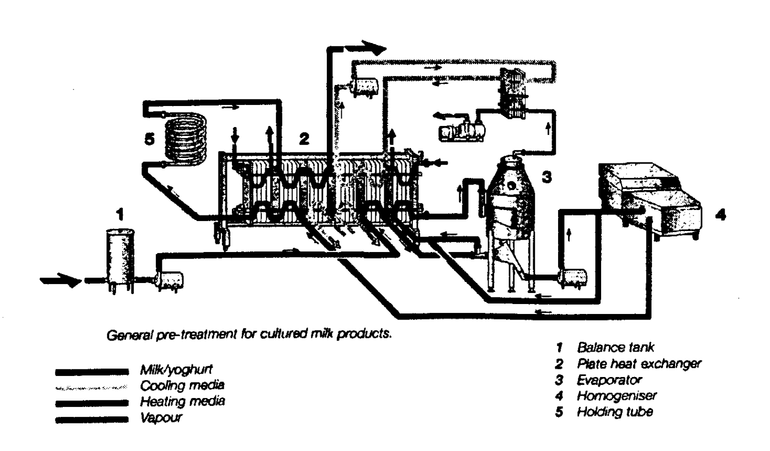
٣- خفض نسبة الأكسجين.

٤- تثبيط عمل المواد المثبطة الطبيعية فى اللبن.

٥- إنتاج حمض الفورميك المنشط لعمل البكتيريا العصوية.

وبكتيريا بادئ الزبادي حساسة جدا لكثير من المثبطات مثل المواد المستخدمة فى غسيل الأجهزة والأصناف وبقايا المضادات الحيوية والمبيدات ولذلك يفضل استخدام البادئات المختلطة عن البادئات الفردية.

وكذلك يجب استخدام لبن مسخن طازج و خالي من المضادات الحيوية وكذلك غير ناتج من حيوانات مصابة بالتهاب الضرع واستخدام طرق النظافة المتكاملة للقضاء على البكتريوفاج.



جهاز المعاملة الحرارية لمنتجات اللبن المتخمر

٣- تبريد اللبن

يتم تبريد اللبن بسرعة إلى ٤٣ °م وذلك لعدم إعطاء فرصة لأي ميكروبات للنمو. كذلك لأعداد اللبن على الدرجة المناسبة لنمو البكتيريا الموجودة بالبادئ.

٤- إضافة البادئ

وهى عبارة عن مزرعة نشطه من بكتيريا حمض اللاكتيك التى تتميز بقدرتها على تكوين حموضة عالية فى اللبن تصل ١ – ٢ ٪ ومصدر البادئ أما أن يكون لبن زبادي جيد على أن يتخلص من الطبقة السطحية بالكشط ثم يضاف بنسبة ٣٪ من وزن اللبن مع مراعاة أن تخفق جيدا حتى يصبح القوام قشديا ثم تخفف بقليل من اللبن الذى سبق إعداده ثم تضاف إلى كمية اللبن المراد تصنيعه وتقليبه جيدا لضمان توزيع البادئ المضاف. وفى المصانع الكبيرة يتم استخدام البادئ الجاف مباشرة إلي اللبن السابق تجهيزه. عند استخدام البادئات سابقا التجهيز فلابد من تنشيطها فى لبن فرز معقم كما سيأتي الحديث عن البادئات.

٥- التعبئة

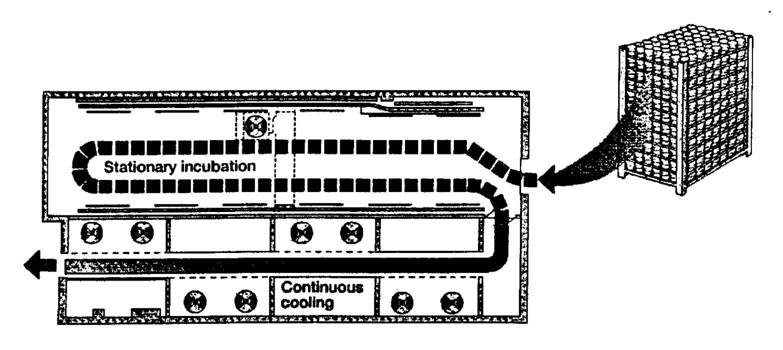
يتم التعبئة يدوي أو ميكانيكي سواء فى العبوات الفخار أو الزجاج أو الورق المقوى.

٦- التحضين

حيث يتم تحضين العبوات فى مكان دافئ على درجة ٤٢-٤٣ °م (يمكن تسخين فرن البوتاجاز ثم إطفاء الشعلة ووضع العبوات داخلة أو صندوق خشبي مزود بلمبة كهربائية أو وضع العبوات فى صينية تحتوى على ماء دافئ) حتى يتم التجبن فى زمن حوالي ٢ - ٣ ساعات.

٧- تبريد الزبادي

يتم وضع العبوات فى الثلاجة لحين الاستخدام.



Combined incubation room and cooling tunnel.

التحضين خلال الحجرات وانفاق التبريد

صفات اللبن الزبادي الجيد

١- متماسك القوام متجانس التركيب ولا يوجد به ثقوب أو فجوات هوائية.

٢- ذو حموضة مناسبة وألا تكون زائدة.

٣- أن يكون ذا طعم نظيف ورائحة نظيفة أى يكون خاليا من الأطعمة والروائح الغير مرغوب فيها.

٤- أن يكون ذا مظهر جيد وخاليا من التشريش.

٥ - ناعم التركيب غير محبب ولا يوجد به تكتلات.

عيوب اللبن الزبادي

١- الطعم الحمضي:- ويظهر هذا العيب للأسباب التالية:-

أ- زيادة مدة التحضين بعد تجبن اللبن.

ب- ارتفاع درجة حرارة التحضين.

ج- زيادة كمية البادئ المضاف.

د- عدم تبريد اللبن مباشرة بعد إخراجه من الحضان.

٢- الطعم المر

يتكون هذا العيب نتيجة استخدام لبن أو بادئ ملوث ببعض أنواع البكتريا التى تعمل على تحلل البروتين وتكوين الطعم المر.

٣- التشريش

وهذا العيب عبارة عن انفصال كمية من الشرش على سطح اللبن الزبادي ويظهر نتيجة زيادة نسبة الحموضة مع تكوين خثره جافة أو قد يظهر هذا العيب نتيجة لانخفاض نسبة الجوامد فى اللبن مع تكوين قوام ضعيف.

٤ - القوام الضعيف و يظهر هذا العيب نتيجة:-

أ- استخدام لبن منخفض فى نسبة الجوامد الكلية مثل اللبن البقرى.

ب- استخدام لبن تم نزع بعض مكوناته.

ج- استخدام بادئ ضعيف.

د- استخدام نسبة قليلة من البادئ.

و- انخفاض درجة حرارة التحضين.

٥- التركيب المثقب:-

وهو عبارة عن وجود ثقوب غازية فى خثره اللبن الزبادي وينشأ عن تلوث اللبن ببعض الميكروبات التى تنتمي إلى بكتيريا القولون التى تخمر اللاكتوز إلى حامض وغاز ووجود تلك الميكروبات يدل على عدم كفاءة المعاملة الحرارية أو عدم النظافة الجيدة مما أدي إلى تلوث اللبن مرة أخري بتلك الميكروبات.

٦- وجود كتل فى اللبن الزبادي :-

وينشأ ذلك العيب عن عدم المزج و التقليب الجيد للبادئ فى اللبن.

كيفية التغلب على العيوب التى تظهر فى اللبن الزبادي

يمكن تلافى عيوب اللبن الزبادي باتباع الأتي:-

١- استخدام لبن جاموسي كامل الدسم وعلى درجة عالية من النظافة الميكروبية وذو حموضة طبيعية وخالي من المواد الحافظة والمضادات الحيوية.
٢- إجراء عملية البسترة بطريقة سليمة بحيث يجرى التسخين ثم التبريد مباشرة.
٣- إضافة البادئ الجيد النشط بالكمية المناسبة.
٤- التحضين على درجة الحرارة المناسبة وبالمدة المناسبة.
٥- نقل الزبادي بعد التجبن مباشرة وبسرعة إلى الثلاجة.

العوامل التى تؤثر على جودة اللبن الزبادي

١- نوع اللبن Choice of milk
٢- تعديل اللبن Milk standardization
٣- إزالة الروائح/الغازات Deaeration
٤- التجنيس Homogenization
٥- المعاملة الحرارية Heat treatment
٦- نوع البادئ Choice of culture
٧- تحضير البادئ Culture preparation
٨- طريقة التصنيع Plant design

١- نوع اللبن Choice of milk

لابد للبن المستخدم فى صناعة الزبادي أن يكون عالى الجودة الميكروبية وخالي من المواد الحافظة والمضادات الحيوية والبكتريوفاج أو بقايا محاليل الغسيل والتعقيم ولذلك فان اللبن الذى سيوجه لصناعة الزبادي لابد أن يكون من الدرجة الأولى G-A.

٢- تعديل اللبن Milk standardization

وتشمل تعديل نسبة الدهن وتعديل الجوامد الصلبة الكلية.

أ- تعديل نسبة الدهن،

تتفاوت نسبة الدهن فى الألبان المتخمرة وتتراوح بين ٠,١ – ١٠٪ و لذلك فأن تعديل نسبة الدهن من الخطوات الأولية الهامة جدا حيث تشمل فرو جزء من الدهن حسب نسبة الدهن المطلوب فى المنتج النهائي أو إضافة قشدة. ويتم استخدام مربع برسون فى ذلك وفى الأجهزة الحديثة يتم برمجة الأجهزة على تعديل نسبة الدهن والحصول على منتج ثابت فى خواصه باستمرار.

ب- تعديل نسبة الجوامد الصلبة الكلية.

حيث بتوقف عليها قوام المنتج النهائي و حتى يتم الحصول على القوام الجيد فلابد من تعديل نسبة الجوامد بإضافة لبن مجفف أو تبخير جزء من الماء أو استخدام اللبن الجاموسي.

وعادة يضاف اللبن المجفف إلى اللبن البقرى بنسبة ٣-٥٪ واللبن الفرز هو الأكثر استخداما ومن الأمور الهامة انه لابد من استخدام لبن مجفف سريع الذوبان و يتم إذابة اللبن المجفف قبل إجراء عملية البسترة وتتم على ٥٠ °م ونظرا لارتفاع ثمن الألبان المجففة فيتم استخدام الكازين ويجب ألا تتعدى نسبة الكازين المضافة عن ٢٪ وإلا حدثت زيادة كبيرة فى لزوجة المنتج وفى بعض الحالات يتم إضافة اللبن المركز باستخدام الترشيح الفوقي.

جـ- الإضافات الأخرى مثل السكر والمثبتات

ويضاف السكر فى الألبان المطعمة و يجب الا يزيد نسبته عن ١٠٪ حتى لا يؤثر على الضغط الاسموزى للبادئ. غالبا يضاف الفواكه على هيئة عصائر نصفها سكر.

أما المثبتات فإنها تضاف بنسبة ٠,١-٠,٥٪ والتى تعمل على ربط الماء وتحسين القوام وعدم طرد الشرش والمثبتات التى تستخدم هى الجيلاتين والبكتين والاجار-اجار والنشا.

٣- إزالة الروائح/الغازات Deaeration

تجرى عملية إزالة الروائح من اللبن خاصة إذا كان يحتوى على رائحة عليق الحيوان و يتم ذلك عدة طرق مثل:-

- إزالة الروائح عن طريق تقليب اللبن
- التسخين مع التقليب فى حوض مفتوح
- استخدام التفريغ العالى وفى بعض الحالات يتم حقن البخار ثم التعريض للتفريغ مما يتبعه إزالة مباشرة للروائح.

ويرجع التأثير المميز لعملية إزالة الغازات على تحسين عملية التجنيس وتقليل الفوران أثناء المعاملة الحرارية وتحسين اللزوجة وثبات المنتج والتخلص من الروائح الكريهة وتحسين نشاط البادئ عن طريق التخلص من الأكسيجين. حيث أن وجود الأكسيجين يعمل على نمو البكتريا السبحية مع عدم تكوين حمض الفورميك المهم لنمو البكتريا العصوية وتقف نمو البكتريا العصوية عند نفاذ حمض الفورميك الموجود فى اللبن.

٤- التجنيس Homogenization

حيث أن التجنيس من العمليات الهامة فى صناعة الزبادي للأسباب التالية:-

١- انتظام توزيع الدهن فى المنتج إذ لا يحدث انفصال لطبقة القشدة أثناء التخمر أو الحفظ.

٢- زيادة لزوجة المنتج إذ زيادة سطوح حبيبات الدهن وامتصاص بروتينات اللبن وخاصة الكازين عليها يزيد من الحجم الكلى الفعال للمواد المعلقة ويصاحب زيادة اللزوجة عادة تحسين في القوام.

٣- انخفاض قوة طرد الشرش من المنتج لتغطية حبيبات الدهن بغشاء يحتوى على نسبة عالية من بروتينات اللبن مما يزيد من القدرة على الاحتفاظ بالماء لتلك الحبيبات فضلا عن التفاعل بين البروتينات وبعضها البعض.

٤- زيادة ابيضاض المنتج نظرا لزيادة أعداد حبيبات الدهن وزيادة انكسار وتفرق الضوء عليها.

إلا أن بعض المستهلكين يفضلون طبقة القشدة على سطح الزبادي والتى تعتبر بالنسبة لهم من دواعي جودة المنتج.

٥- المعاملة الحرارية Heat treatment

يتم تسخين اللبن تسخينا غير مباشر بواسطة حمام مائي إلى ٨٥°م مع التقليب المستمر لمدة ١٥-٣٠ دقيقة والغرض من المعاملة الحرارية:-

أ- إبادة الميكروبات الموجودة فى اللبن والقضاء على بعض الإنزيمات غير المرغوب فيها مثل الليبز الذى يصبح نشاطه عالى اللبن المتجنس ولذلك فالمعاملة الحرارية مهمة جدا بعد عملية التجنيس مباشرة.

ب- تكثيف اللبن بتبخير جزء من مائه وتعتبر أحدى طرق تعديل الجوامد الصلبة فى اللبن.

جـ- زيادة نشاط بكتريا حمض اللاكتيك وذلك بالقضاء على البكتريا التى تنافس نشاط البادئ فى النمو بالإضافة إلى خفض جهد الأكسدة والاختزال مما يوفر بيئة مثلى لبكتريا البادئ.

د- دنترة بروتينات الشرش ذات تأثير مرغوب على قوام ولزوجة الألبان المتخمرة وتقلل من انفصال الشرش من المنتج.

٦- نوع البادئ Choice of culture

حيث أنه هناك العديد من البادئات التى تستخدم فى صناعة الزبادي ليس الاختلافات فى الأنواع فقط ولكن الاختلافات فى السلالات حيث انه هناك سلالات من *Streptococcus thermophilus* لها القدرة على إنتاج السكريات العديدة وبالتالى تستطيع أن تعمل كمثبت وتعمل على تحسين القوام خاصة فى المنتجات منخفضة نسبة

الدهن. بالإضافة إلا أن هناك سلالات تعطى قوام مرهمى وأخرى تعطى قوام قوى. وكذلك تختلف السلالات فى إنتاج مركبات النكهة المطلوبة.

٧- تحضير البادئ Culture preparation

حيث انه يوجد العديد من صور البادئات فمنها ما يتم تحضيره يوميا ومنه ما يوجد فى صورة مركزة ومنه ما يتم إضافته مباشرة. ويعتبر البادئات التى تضاف مباشرة أصبحت متاحة ولها فوائد عديدة إنها ستحافظ على السلالات نقية باستمرار بدون الخوف من حدوث تلوث أثناء التحضير أو تغير فى صفاتها نتيجة حدوث طفرة طبيعية.

٨- طريقة التصنيع Plant design

وهى تختلف باختلاف كميات الزبادي التى تصنع وكذلك باختلاف المنتج المطلوب والإمكانيات المتاحة وطرق التعبئة المستخدمة.

تكنولوجيا إنتاج اليوغورت yoghurt

يعتبر اليوغورت من اكثر الألبان المختمرة انتشارا فى العالم وقد أدخلت على صناعته العديد من التعديلات.

طرق صناعة اليوغورت

يوجد نوعين من الزبادي وهما الزبادي العادي والزبادي المقلب.

أجهزة تصنيع اليوغورت

أولا: أجهزة تصنيع اليوغورت الجالس Set yoghurt

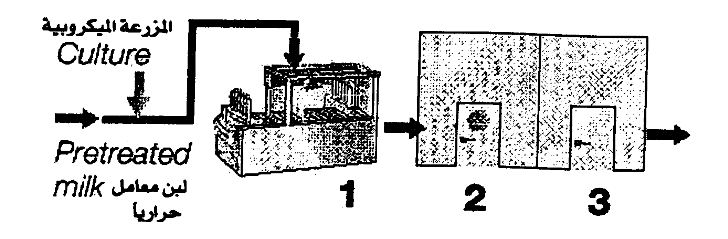
تنحصر طريقة صناعة اليوغورت الجالس فى تلقيح اللبن بالبادئ على درجة حرارة التحضين المستخدم وقد يضاف إليه المواد المكسبه للطعم والرائحة وفى حالة إضافة الفواكه تضاف أولا فى العبوة ثم تعبأ بعد ذلك باللبن الملقح بالبادئ فى عبوات التوزيع وتقفل وتحفظ على درجة حرارة التحضين للمدة المطلوبة ثم تبرد وتوجد ثلاثة أنواع من معدات التحضين.

١- معدات تستخدم نظام الحمام المائي tanks أو water bath وتستخدم عادة مع العبوات الزجاجية بحيث تحفظ العبوات فى حوض ضحل يصل ارتفاع الماء

الساخن فيه إلى أقل من ارتفاع العبوة لتجنب حدوث أى تلوث من الماء للمنتج وبعد تمام التجبن يستبدل الماء الدافئ بالماء البارد لتبرد العبوات.

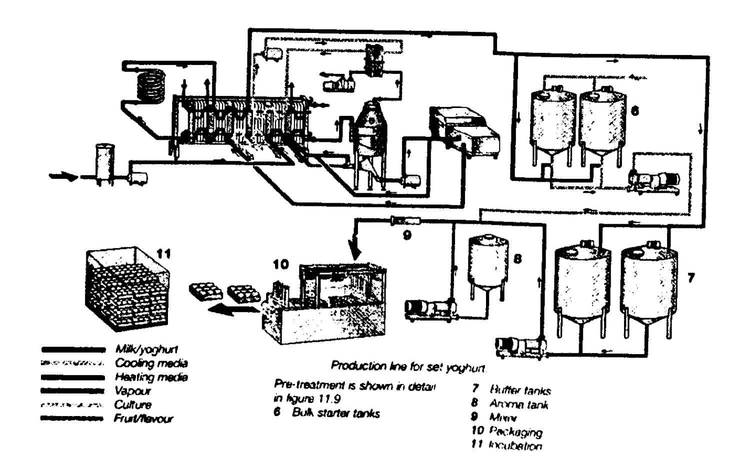
٢- نظام الكبائن وهذه الكبائن معزولة وذات حجم يتراوح بين ٢٥٠-٧٥٠ لتر ويحفظ عبوات اليوغورت أثناء مرحلة التحضين حيث يدفع فيها الهواء المسخن حتى وصوله إلى درجة الحموضة المطلوبة ثم يدفع فيها الهواء البارد.

٣- نظام الأنفاق Tunnel ويستخدم غالبا فى حالة الإنتاج الكبير وبنظام مستمر حيث توضع العبوات بعد رصها فى طبقات على سير متحرك يمر داخل نفق يتكون من جزأين، الجزء الأول يدفع فيه تيار من الهواء الدافئ لتوفير درجة الحرارة المناسبة للتخمر مع التحكم فى سرعة السير تبعا لسرعة تطور الحموضة فى العبوات ثم تمرر العبوات بعد التجبن إلى الجزء الثاني من النفق حيث تبرد العبوات بتيار من الهواء البارد.



1 *Cup filler* تعبئة الأكواب
2 *Incubation room* غرفة التحضين
3 *Rapid cooling room* غرفة التبريد السريع

Set Yoghurt تصنيع اليوغورت الجالس



Production line for set yoghurt

Pre-treatment is shown in detail in figure 11.9
6 Bulk starter tanks
7 Buffer tanks
8 Aroma tank
9 Mixer
10 Packaging
11 Incubation

خط تصنيع الزبادى من النوع الجالس

ثانيا: معدات تصنيع اليوغورت المقلب

يصنع اليوغورت المقلب فى أحواض على صورة مجمعة Bulk ثم يكسر الجل (الخثرة) المتكون بالتقليب قبل وأثناء التبريد وفى خطوة التعبئة وهناك أنواع متعددة من الأحواض المستخدمة فى إنتاج اليوغورت المقلب يمكن تقسيمها على النحو التالي:-

الأحواض متعددة الأغراض Multi puropose tank

حيث يستخدم هذا النوع من الأحواض فى إذابة المواد الصلبة المضافة إلى اللبن والمعاملة الحرارية للبن والتحضين وإنتاج اليوغورت.

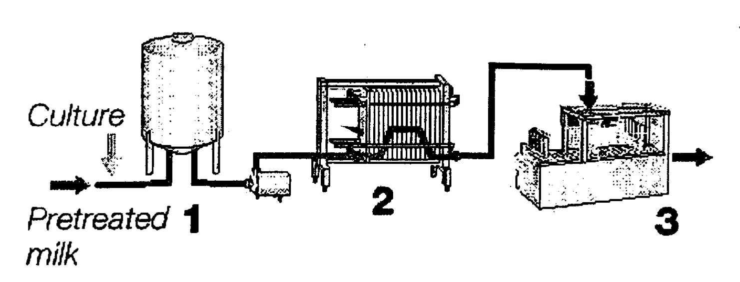
وعلى ذلك ففى مرحلة التحضين وبعد إضافة البادئ إلى اللبن المعدل التركيب و عند درجة الحرارة المطلوبة يتم المحافظة على تلك الدرجة بإمرار ماء دافئ فى الفراغ بين جداري الحوض وبعد تمام التجبن ووصول الحموضة إلى الدرجة المطلوبة يتم دفع تيار من الماء المبرد بين جداري الحوض لتبريد الخثرة للدرجة المطلوبة مع التقليب البسيط للخثرة.

أحواض للتحضين فقط Fermentation tank only

وهذا النوع من الأحواض يتميز بعزل جدرانه للمحافظة على درجة حرارة التحضين ثابتة ومنتظمة أثناء التحضين وقد يزود الحوض بمقلب ولكنه غير اساسي لعدم تكسير الخثرة فى هذه المرحلة وإمكان إزالة الخثرة بسهولة من قاع الحوض المخروطي الشكل.

أحواض للتحضين والتبريد Fermentation/cooling Tank

وهذا النوع من الأحواض ذو جدار مزدوج يتم دفع الماء الدافئ بين جداريه أثناء مرحلة التحضين ودفع الماء المبرد مرحلة التبريد.



Stirred yoghurt. الزبادى المقلب

1 Incubation tank وعاء التحضين
2 Cooler المبرد
3 Cup filler التعبئة للأكواب

احواض التحضين المعقمةAseptic fermentation tanks

يـتم فـى هـذه الأحـواض تعـديل أحـواض التخمـر العاديـة لتناسـب التحضـين تحت ظروف معقمة على النحو التالي:

عزل الحوض.

تزويد الحوض بمقياس لل pH والحرارة المناسبين.

تزويد المقلب بعازل مزدوج وحاجز من البخار Steam barrier لتقليل فرص التلوث.

ويلاحظ أن فتحة دخول اللبن إلى الأحواض المختلفة قد صممت لتقليـل حـدوث الرغوة داخل الحوض.

ومن الخطوات المهمة فى أعداد اليوغورت المقلب سرعة تبريد الخثرة بعد وصـول الحموضة فيها إلى الدرجة المناسبة وذلك الإبطاء نمـو ونشاط بكتيريـا البـادئ بمـا يسـمح بعدم ارتفاع الحموضة عن الحد المطلوب والـذى يـؤدى إلى عيـوب فـى طعـم و قـوام المنـتج وعادة ما ينصح بالبدء فى تبريد اليوغورت المقلب عنـدما تصل الحموضـة فـى الخثـرة إلى ٠,٨ - ١٪ حمض لاكتيك يضـمن أن تصل الحموضـة فـى المنـتج النهـائي إلى ١,٢ - ١,٤٪ حمـض لاكتيك وهـى الحموضـة المرغوبـة. ويتوقـف سـرعة تبريـد اليوغـورت فـى الأحـواض علـى عوامل متعددة منها:-

١- حجم الحوض والذى يحدد المسطح المعرض للتبريد فكلمـا قـل حجـم الحـوض زاد المسطح المعـرض للتبريـد ويمكـن زيـادة المسطح المعـرض للتبريـد بـتغير تصـميم الحوض بحيث يسمح بوجود أجزاء داخلية مبردة (حواجز مبرد).

٢- سرعة التقليب فتزيد سرعة التبريد مع زيادة سرعة التقليب إلا أن هذا لا يتفـق مع الحاجة إلى المحافظة على قوام الخثرة وبالتالي فان هناك حـدا أعلـى لا يسـمح بتجاوزه سرعة التقليب.

٣- الفرق فى درجة الحرارة بين وسط التبريد واليوغورت المتخمر فكلمـا زاد الفـرق زادت سرعة التبريد.

٤- سرعة مرور محلول التبريد.

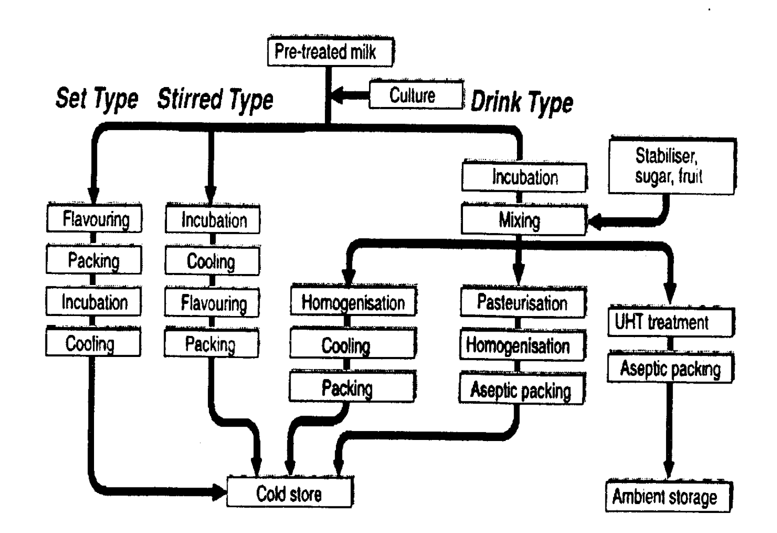
٥- المدة التى يتعرض لها المنتج للمسطح المبرد.

وعادة ما يستخدم للتبريد محلول ملحى مبرد إلى درجة ٣,٨ - ٤ م. وفى بعض التصميمات.

والتى يتم تبريد اليوغورت خارج حوض التخمر تستخدم مبردات من النوع ذي الألواح المستخدم فى مصانع الألبان ولكن يجب أن تكون المسافة بين الألواح أكبر من المسافة المستخدمة فى حالة اللبن وأيضا تتزايد هذه المسافة كلما تقدمنا فى الألواح المتتالية و ذلك للتغلب على الضغط العكسى وللمحافظة على قوام اليوغورت أثناء مرحلة التبريد و ينصح فى بعض الأحيان باستخدام وحدات صغيرة من المبردات ذات الألواح عن استخدام مبرد واحد يزداد فيه عدد الألواح المستخدمة. وقد تستخدم أيضا مبادلات من النوع الأنبوبي لتبريد اليوغورت وهذا النوع يسبب تغيرا أقل من مبادلات الألواح فى قوام اليوغورت ولزوجته.

معدات خلط اليوغورت بالفاكهة Fruit/Yoghurt blending

تمثل هذه الخطوة إحدى الخطوات المهمة فى صناعة اليوغورت المطعم بالفواكه المجهزة و التى تصل إلى المصنع معبأة فى عبوات معدنية (علب) أو فى براميل من البولى بروبلين أو فى أحواض من الصلب الذى لا يصدأ تبعا لحجم إنتاج اليوغورت ومدى الحاجة إلى كميات الفواكه فى العلب فتستخدم فى حالة الإنتاج المحدود أما الأحواض المصنوعة من الصلب الذى لايصدأ تستخدم فى حالة توريد كميات كبيرة من الفواكه وبصفة منتظمة وبالطبع فان المصنع يجب أن يكون مزودا بوسائل لتداول مركزات الفواكه تبعا لنوع العبوة المستخدمة وطبيعة المركز المستخدم.



Block diagram showing production steps for set, stirred and drinking yoghurt.

تسلسل تصنيعى لإنتاج مشروب اليوغورت

ويتم خلط مركزات الفواكه مع اليوغورت بإحدى الطرق التالية:

الطريقة اليدوية / المرحلية

وهذه الطريقة هى أسهل الطرق المستخدمة وتناسب الكميات المحدودة من الإنتاج وعادة ما يتم تحضير اليوغورت فى حوضين يتم مزج اليوغورت فى أولهما بالكمية المحدودة من مركزات الفواكه باستخدام المقلب ببطء وبعد تمام المزج يدفع المخلوط إلى وحدة التعبئة وفى هذه الأثناء يتم مزج اليوغورت فى الحوض الثاني بالمركزات لحين الانتهاء من تفريغ الحوض الأول وهكذا يتم استخدام الحوضين بالتبادل.

الطريقة المستمرة

وتتكون وحدة خلط اليوغورت بمركزات الفواكه من ثلاثة أجزاء الأول وحدة لقياس ودفع كمية محدودة من مركز الفاكهة لإعطاء الكمية المحدودة مركز الفاكهة فى خط سير اليوغورت. والجزء الثاني من تلك المعدة وهى وحدة لقياس ودفع الكمية المطلوبة من اليوغورت أما الجزء الثالث فهي غرفة للمزج تعمل على توزيع الفواكه واليوغورت بانتظام فى المخلوط. وتتوافر عديد من تصميمات وحدات مزج الفواكه مع اليوغورت بطريقة مستمرة على أن أسس اختيار أيهما يتوقف على:-

- مدى كفاءة مزج اليوغورت بمركزات الفواكه ودقة قياس كل من المكونات المضافة المختلفة.
- عدم التأثير على قوام الخثرة.
- سهوله الفك والتنظيف ويفضل أن تناسب التنظيف المكاني.

الزبادي المطعم Flavored yogurt

الزبادي المطعم بالعديد من الطعوم والنكهات المختلفة أصبح واسع الانتشار. والطعوم المستخدمة هى طعوم الفواكه وغالبا ما يحتوى عصير الفواكه على ٥٠٪ سكر. وأحيانا يمكن تعبئة الفواكه فى مكان منفصل عن الزبادي ويتم خلطهم معا عند الاستخدام.

أحيانا أيضا يتم إضافة طعوم أخري مثل الفانيليا وعسل النحل والقهوة الخ ... ويتم دائما إضافة سكر القصب أو الجلوكوز او الاسبارتم aspartame والألوان المطلوبة.

وكذلك يضاف المثبتات ونتيجة لتلك الإضافات فأنها تعمل على زيادة المادة الصلبة فى الناتج النهائي. ويصبح التركيب كما يلى:- الدهن (٠,٥ –٣٪)، اللاكتوز (٣-٤,٥٪)، المادة الصلبة اللادهنية (١١-١٣٪)، المثبتات لو استخدمت (٠,٣ –٠,٥٪) والفواكه (١٢-١٨٪).

اليوغورت المعامل بالحرارة (بسترة/تعقيم لحظى UHT)

يمثل استمرار نشاط البادئ فى اليوغورت بعد تمام التصنيع وأثناء عمليات التسويق والحفظ أحد المشاكل الرئيسية التى تحد من مدة صلاحيته واحتفاظه بخواصه حتى وصوله إلى المستهلك. كذلك فإن اليوغورت المحضر تحت ظروف غير معقمة يكون عرضه لظهور العيوب الميكروبية فيه أثناء الحفظ والتخزين وخاصة نتيجة لنمو الخمائر والتى تؤدى إلى تلفه وانخفاض مدة صلاحيته أيضا.

لذلك فقد اتجه التفكير إلى معاملة الألبان المتخمرة بالحرارة بعد التخمر وقبل التعبئة أو بعدها وذلك للتغلب على الصعوبات الميكروبية التى تظهر أثناء حفظ وتسويق اليوغورت. غير أن هذه الطريقة لها مصاعب نذكر منها ما يلى:-

- اكثر البلدان ترفض إطلاق اسم الألبان المتخمرة على تلك المعاملة بالحرارة حيث يفضل أن يكون البادئ فى حالة نشطة والتى يكون له أهمية صحية.
- انفصال الشرش ويتم التغلب علية كما يلى:-
  - بزيادة نسبة المثبتات لأعلى من ١٪.
  - تبريد اليوغورت بعد تمام التجبن وقبل المعاملة الحرارية.
  - تعبئة اليوغورت المعامل بالحرارة وهو ساخن ثم يتم التبريد النهائى للعبوات.
- الفقد فى النكهة تعتبر أيضا من عيوب ذلك المنتج.

مشروب اليوغورت YOGHURT DRINK

يمثل هذا المنتج أحد المنتجات الهامة فى أسواق الشرق الأوسط ويطلق علية لبن وهو فى الواقع عبارة عن يوغورت مقلب قليل اللزوجة ويحضر هذا المنتج بإحدى طريقتين:-

الطريقة التقليدية

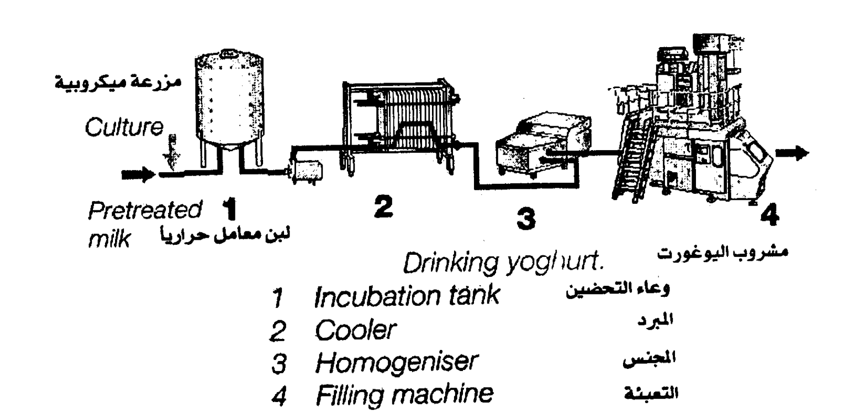
وفيها يحضر اليوغورت المقلب بالطريقة المعتادة ويبرد ثم يضاف إلية حجم متماثل من الماء وخلطه جيدا ثم يعبأ بعد ذلك فى عبوات زجاجية بغطاء من الألومنيوم.

- الطريقة المتبعة فى أوربا والولايات المتحدة (الطريقة المحورة):

وفيها يحضر المخلوط المستخدم فى صناعة اليوغورت بحيث يحتوى على نسبة أقل من المواد الصلبة اللادهنية ومن الأهمية (٦ ٪ جوامد صلبة لا دهنية و ١٪ دهن و ٥ ٪ سكر) ثم يحضر منه اليوغورت المقلب بالطريقة المعتادة ويبرد ثم يضاف إليه بعض الفواكه ويضخ المخلوط باستخدام مضخة دائرية ثم الى المجنس دون تعريض المنتج لأى ضغط تجنيس. ثم يعبأ المنتج ويحفظ مبردا.

الكشك

فى دول الشرق الأوسط و جنوب شرق أوربا يتم إطالة فترة حفظ اللبن الحمضي عن طريق تجفيفه إلى منتج يسمى Kurut ويضاف حبوب القمح ويتم تشكيلها على هيئة كرات ثم تجفيفها تحت أشعة الشمس وهو ما يعرف بالكشك Kishk ويمكن إعادة ذوبان ذلك المنتج مرة أخرى عند الحاجة ويستطيع أن يحفظ ذلك المنتج على درجات حرارة الجو العادي لمدة طويلة جدا تصل إلى سنوات.


مزرعة ميكروبية
Culture
Pretreated milk
لبن معامل حراريا
1
2
3
4
مشروب اليوغورت
Drinking yoghurt.
1 Incubation tank وعاء التحضين
2 Cooler المبرد
3 Homogeniser المجنس
4 Filling machine التعبئة

ينتشر صناعة الكشك فى صعيد مصر من لبن الزير ويخلط معه حبوب القمح المطحونة والمجففة ولبن الزير عبارة عن لبن خض تم الحصول علية فى اشهر الصيف ويتم تجميعه فى الزير مع اضافه الملح التى تتوقف كميتها على حسب المذاق الشخصى. ونظرا لوجود المسام فى الزير فانه سيحدث تركيز لمكونات اللبن الخض ويسمى فى هذه الحالة لبن الزير. ويتميز لبن الزير بارتفاع الحموضة حيث تصل فى المدى بين ١,٦٠ — ١,٩٥٪ ومحتوى البروتين فى المدى من ٦,٥ — ١٥٪ ونسبة الملح ١,٥ — ٥,٥٪ ويحتوى على إعداد هائلة من البكتريا والخميرة والفطريات. وقد يستخدم لبن الزير فى صناعة بعض السلاطة الحمضية أو يخفف بالماء ويستخدم كمشروب حمضي. ولكن الاستخدام الأكثر شيوعا هو صناعة الكشك ويتلخص صناعته كما يلى:-

١- يتم الحصول على لبن الزير كما سبق.

٢- يتم غلى حبوب القمح حتى تصبح طرية ثم تجرش.

٣- يضاف مجروش القمح إلى لبن الزير بعد تخفيفه بالماء أو اللبن و يتم الحصول على عجينه متجانسة.

٤- يترك لمدة ٢٤ ساعة تحدث خلالها تخمران تكسب المنتج طعم مميزو قد يضاف بعض التوابل إلى المخلوط لتحسين الطعم ثم يقسم المخلوط بعد ذلك إلى قطع صغيرة ثم تترك لتجف تحت أشعة الشمس لمدة ٢- ٣ أيام.

٥- بعد عملية التجفيف قد تجرى عملية تحميص فى الأفران لزيادة القدرة الحفظيه ويخزن بعد ذلك فى صوامع لحين الاستخدام.

لبن البفيدوس Bifidus milk

وهذا النوع من الألبان المتخمرة يصنع باستخدام البفيدو بكتريا *Bifidobacterium bifidium* وهو يصنع بكميات صغيرة فى الدول الأوربية ويعتبر من الأغذية العلاجية والداعمة للحيوية. ويصنع من لبن كامل أو فرز والسلالات المستخدمة تنمو ببطء فى اللبن وتنتج حامض خليك وحامض لاكتيك بنسبة ٣ : ٢ تقريبا ويتكون نسبة بسيطة من كل من حامض الفورميك وحامض السكسنيك وكحول الإيثيل. ويصنع كما فى اللبن الزبادي من معاملة حرارية وإضافة اللبن المجفف لزيادة نسبة البروتين

لتحسين القوام ولكن يتم إضافة البادئ بنسبة ١٠٪ و يعبأ ويحضن على ٣٧ – ٤٢ °م حتى يتم التجبن. وهذا النوع من الألبان المتخمرة يتميز بسهولة الهضم ويستخدم فى علاج الإضرابات المعوية. كما له دور فعال فى إعادة الميكروبات الطبيعية فى القناة الهضمية بعد العلاج بالمضادات الحيوية.

ومن الممكن إضافة بعض السلالات التى تعمل على تكوين الحموضة بمعدل عالي مثل بكتريا *Lactobacillus acidophilus* أو بكتريا *Streptococcus thermophilus* أو السلالتان معا.

الكفير والكوميس Kefir and Kumys Starters

تختلف الألبان المتخمرة المنتجة فى بعض دول شمال آسيا بأن البادئات تحتوى بالإضافة إلى بكتريا حمض اللاكتيك على الخميرة التى تعطى بعض الكحول والغازات (ثاني اكسيد الكربون) معطية المنتج الخواص المميزة والتى تختلف عن الألبان المتخمرة الناتجة من استخدام بادئات نقية من بكتريا حمض اللاكتيك.

حبوب الكفير Kefir

بادئات الكفير والتى يطلق عليها حبوب الكفير تتميز بشكل غير منتظم وسطحها مطوي ذو لون ابيض يميل للاصفرار وقوام مطاطي وطعم حمضي مميز ويتراوح قطر حبوب الكفير بين ١-٢ إلى ٣-٦ مليمترات أو اكثر وحبوب الكفير النشطة تطفو على سطح اللبن وتنشأ حبوب الكيفير من علاقة تعاونية قوية ومحددة. المكونات الأساسية لحبوب الكفير هى بكتريا حمض اللاكتيك وبكتريا حمض الخليك والخميرة.

وبكتريا حمض اللاكتيك تتبع الجنس *Lactococcus* المحب للحرارة المتوسطة ومتجانس التخمر وتشكل الجزء الأكبر من البادئ وتعطى حموضة سريعة فى بداية عملية التخمر ويتم تثبيطها بارتفاع الحموضة. والبكتريا العصوية التى توجد فى بادئ الكفير قليلة الأهمية لانخفاض إعدادها والسلالات التى توجد هى *Lb. delbruckii* subsp. *bulgaricus*, *Lb. helveticus*, *Lb. casei* يتواجد

ايضا بعض السلالات الأخرى مثل *Leuconostoc mesentroides, Leu. dextranicum* والتى تساهم فى إعطاء الطعم والرائحة المميزين للكفير.

الخمائر وتشمل:

Torulespore delbruckii, Candide Kefar, Saccharomyces cerevisiae, Kluyveromyces merxianus subsp. merxiuanus.

ويمكن تفسير عدم التجانس فى الأنواع إلى اختلاف الطرق المستخدمة فى تنمية حبوب الكفير. وتلعب الخمائر دورا مهما فى التعاون بين مختلف الميكروبات وفى إنتاج ثاني أكسيد الكربون وفى إظهار الطعم والرائحة المميزين. وزيادة نمو الخمائر يؤدى إلى زيادة كمية الغازات الناتجة مما يشكل متاعب فى التعبئة.

بكتريا حمض الخليك Acetic acid bacteria

تلعب هذه المجموعة من البكتريا دورا هاما فى ثبات التعاون بين حبوب الكيفير بالإضافة إلى أهميتها فى إظهار القوام وزيادة اللزوجة للناتج. نظرا لكبر حجم حبوب الكيفير فإنه يمكن فصلها من البادئ وبادئ الكيفير المحضر بعناية له التركيب التالي:-

- بكتيريا حمض اللاكتيك متجانسة التخمر $١٠^{٨}$ - $١٠^{٩}$ /مل.
- بكتيريا العصوية المحبة للحرارة $١٠^{٥}$/مل.
- بكتيريا حمض اللاكتيك غير متجانسة التخمرات $١٠^{٧}$ - $١٠^{٨}$/مل.
- الخميرة $١٠^{٥}$- $١٠^{٦}$/مل و بكتيريا حمض الخليك $١٠^{٥}$- $١٠^{٦}$/مل.
- الحموضة ١,٨٧-١,٩٦٪ حمض لاكتيك.

للحصول على بادئ له التركيب المرغوب يجب اتباع الأتي:-

- يجب تجديد اللبن المستخدم كل يوم فى نفس الوقت.
- ان النسبة بين الحبوب واللبن يجب أن تكون فى الحدود ١ : ٣٠ الى ١ : ٥٠.
- يجب تسخين اللبن الفرز المستخدم على درجة ٩٥ م لمدة ١٠-١٥ دقيقة.
- إجراء ٢ - ٣ عمليات تقليب أثناء تنمية البادئ.

الصفات المميزة لبادئ الكيفير:-

١- لا يتـأثر نشـاط البـادئ بـالتغيرات الموسميـة فـى تركيـب اللـبن أو بوجـود النسـب الطبيعية الموجودة من المضادات الحيوية.

٢- مقاومة للبكتريوفاج.

٣- أى محاولة لاستبدال حبوب الكيفير ببادئ مكون مـن مـزارع نقيـة مـن الميكروبـات غير فعال نظرا لتغير النسب بين المكونـات الميكروبيـة المختلفـة مـع عمليـات إعـادة الزرع.

٤- يمكـن المحافظـة علـى نشـاط حبـوب الكيفير سـنوات متعـددة إذا مـا نميـت تحـت الظروف الملائمة لنموها. ويمكن تجفيد حبوب الكيفير فـى بيئـة مناسـبة ويمكنهـا استعادة نشاطها عند تنميتها فى اللبن المبستر.

تحضير واستخدام بادئ الكيفير

الكيفير المحضـر باسـتخدام حبـوب الكيفير لـه الصفات والطعـم المميـزين لـذلك المنتج ولذلك من المستحسن استخدامها لإنتاج الكيفير حتـى علـى النطـاق الصـناعى. وفـى بعض الأحيان يحضر الكيفير بالبـادئ كـبير الحجـم و الـذى يسـتخدم فـى تحضـيره للبـادئ الناتج من تخمر اللبن المبستر بحبوب الكيفير كما فى الرسم التالى:

الكوميس Kumys

هو أحد الألبان المتخمرة من لبن فرز ويحضر فى المنازل والمستشفيات باسـتخدام البادئات الطبيعية وقـد درسـت تلـك البادئـات ووجـد أنهـا تحتـوى علـى خلـيط مـن أنـواع بكتيريا حمض اللاكتيك والخمائر على النحو التالي:-

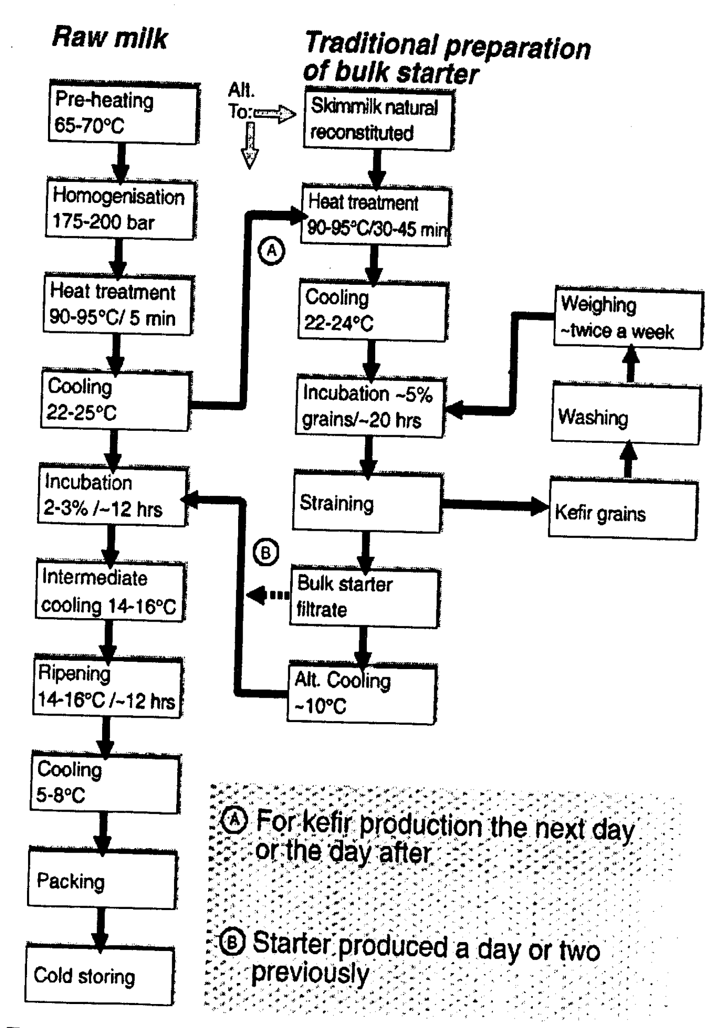
١- الخمائر. وجد أن هناك ثلاثة أنواع من الخمـائر موجـودة فـى بادئـات الكـوميس وهى:

- خمائر لها القدرة على تخمير اللاكتوز *Saccharomyces lactis*.
- خمائر ليس لها القدرة على تخمير اللاكتوز *S. carttilagionosus*.
- خمائر ليس لها القدرة على تخمير الكربوهيدرات *Mycoderma*

والأولى هى المنتجة للكحول المميز لهذا المنتج وتصل نسبته إلى (٢,٥ - ٣,٥ ٪) وانواع *Saccharomyces* الموجودة لها القدرة على إنتاج المضادات الحيوية. وبعضها له قدرة فعالة ضد عديد من البكتيريا المرضية فقد وجد بعض سلالات *Lc. lactis* تنتج مضادا حيويا ذا فعالية ضد ميكروب الدرن (السل). وقدرة الخمائر هذه على إنتاج المضادات الحيوية تزداد بإنمائها مع بكتيريا حمض اللاكتيك.

٢- بكتيريا حمض اللاكتيك العصوية الوسطية و هذه توجد احيانا.

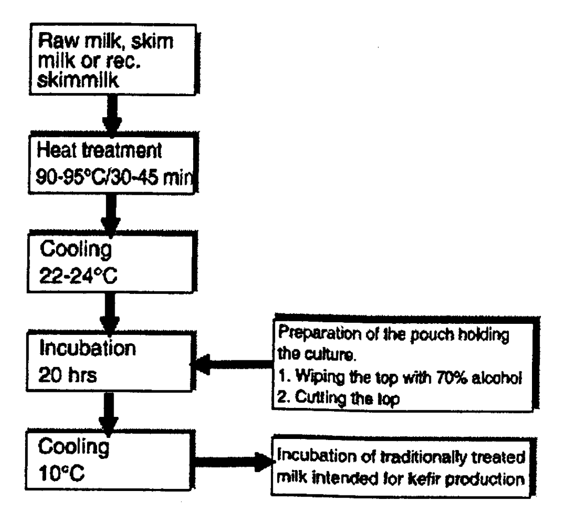
٣- بكتيريا حمض اللاكتيك العصوية المحبة للحرارة المرتفعة *Lb. delbruckii subsp bulgaricus* وهذه هى المسئولة أساسا عن إنتاج حمض اللاكتيك فى الكوميس.



Typical block diagram of the various process stages in kefir production.

الخطوات الأساسية لإنتاج الكيفير

كما يمكن استخدام البادئ المجفد فى صناعة الكفير كما فى الرسم التالي:-



Bulk starter preparation for kefir with a freeze-dried culture

إنتاج اللبن المتخمر الكوميس

تحضير الكوميس

لتحضير الكوميس من لبن الأبقار على النطاق الصناعي يتم استخدام بادئ يتكون من خلط ١٠ - ١٥ مل من مزارع نقية من *Lb. delbruckii subsp. bulgaricus, Lb. acidophilus* مع الخميرة *S. lactis* المحضرة من غسل ٢-٣ أنابيب باستخدام ٢٠٠ مل من اللبن المبستر والمبرد إلى ٣٠ °م ويحضن اللبن أولا على درجة ٣٠ °م لمدة ٧-١٠ ساعات ثم على درجة حرارة الغرفة لمدة ٣-٦ ساعات أخرى. وذلك لتشجيع نمو الخميرة. ولتحضير البادئ الوسطى يتم تلقيح اللبن ب ١٠-٢٠٪ من البادئ السابق وإجراء التحضين على درجة ٣٠ °م لمدة ٢-٨ ساعات ثم على درجة حرارة الغرفة لمدة ٣-٦ ساعات أخرى. ويستخدم هذا البادئ لتحضير البادئ الكبير بإضافة ١٠-٢٠٪ منه إلى اللبن الفرز المبستر على درجة ٨٥-٩٠ °م وعندما تصل الحموضة إلى ٠,٨ - ٠,٩٪ يقلب اللبن و يحفظ لمدة ٣-٤ ساعات لتشجيع نمو الخميرة وفى خلال هذه الفترة يقلب البادئ ١٠ مرات لمدة ٥ دقائق. وحموضة الناتج تقع فى المدى من ١,١٢ - ١,٤٠٪.

صناعة اللبنة

تصنع فى بلاد الشام من لبن الأغنام ونجحت صناعتها من اللبن الجاموسى والبقرى وقد نجحت صناعته من اللبن الفرز والزيوت النباتية بعد التجنيس.

يصنع اللبن الزبادي كما سبق توضيح طريقة صناعته وبعد تمام التجبن يفضل حفظه باردا فى الثلاجات لمدة ١٨ ساعة للحصول على القوام الجيد للخثرة ولعدم فقد الخثرة أثناء التصفية. يستخدم الشاش الضيق أو أقمشة التنجيد فى عمل أكياس حسب الأحجام المطلوبة ويكون مقاسها ١٢٠ X ٨٠ سم و تقريبا كل ٢٠ كيلو زبادي تحتاج إلي كيس. ويضاف الملح حوالي ٠,٥-١٪ و يقلب جيدا ثم يتم تعبئة الخثرة فى الأكياس وترك لتصفية الشرش عن طريق تعليق الأكياس وتركها لمدة ٢٤ – ٣٦ ساعة حتى تتم التصفية. وبعد الحصول على الخثرة تقلب ثم تعبأ فى العبوات الخاصة بها. وتحفظ على درجة حرارة الثلاجة. وفى بلاد الشام يتم حفظها فى زيت الزيتون.

التغيرات التى تحدث فى مكونات اللبن أثناء صناعة وتخزين اليوغورت

يصاحب نمو ونشاط الكائنات الدقيقة المستخدمة فى صناعة اليوغورت تغيرات عديدة فى مكونات اللبن ينشأ عنها القوام والنكهة المميزين لذلك المنتج، وتؤثر على التغيرات مجموعتين من العوامل بصفة عامة.

١- تركيب اللبن المستخدم والمعاملات التكنولوجية المستخدمة فى إعداده مثل المعاملات الحرارية والتجنيس.

٢- الكائنات الحية الدقيقة المستخدمة إذا ما استخدم نوع واحد أو عدة أنواع ونسب كل نوع إلى الآخر ومقدار نسبة التلقيح ودرجة حرارة ومدة التحضين. وفى صناعة اليوغورت يستخدم بصفة أساسية نوعى الكائنات الدقيقة ولذلك فإننا سنأخذ تأثيراتها بصفة أساسية فى استعراض التغيرات فى مكونات اللبن أثناء صناعة وحفظ اليوغورت.

اولا: التغيرات التى تحدث فى سكر اللبن/انتاج حمض اللاكتيك.

يشكل اللاكتوز المكون الكربوهيدراتى الأساسى فى اللبن وتبلغ نسبته فى المتوسط ٤٧ جم/كجم لبن و فى صناعة اليوغورت غالبا ما يدعم اللبن البقرى باللبن الفرز المجفف (حوالي ٣٪) أو يركز اللبن بالتبخير. وهذا يرفع تركيز اللاكتوز فى اللبن المعد لصناعة اليوغورت إلى حوالي ٦٠ جم/كجم لبن.

ولكي تؤثر البكتريا على سكر اللبن فإن أول خطوة لذلك هى انتقال اللاكتوز من اللبن إلى داخل الخلية البكتيرية مارا بغشاء الخلية ويتحلل اللاكتوز بعد دخوله إلى الخلية إلى مكونين (الجلوكوز و الجلاكتوز) ثم يحدث سلسلة التفاعلات المعروفة باسم Embden-Meyerhof-pathway حتى يتكون حمض اللاكتيك ويمر خارج الخلية للمحافظة على ال pH الموجود داخل الخلية البكتيرية.

ونظرا لأن تخمرات اللاكتوز ببادئ اليوغورت تتبع النظام المتجانس للتخمر hemofermentative فإن جزئ واحد من اللاكتوز يعطى تبعا للمعادلة:

جزئ لاكتوز ←―――― جزئ جالاكتوز + ٢ جزئ حمض لاكتيك + طاقة

ومن الناحية العملية فإن حمض اللاكتيك المتكون يمثل ٩٥٪ من الحموضة المتكونة بجانب نسبة ضئيلة من المكونات الصغرى ذات الأهمية فى إعطاء النكهة للمنتج وهى الأحماض الطيارة والكحول والأسيتون والبيوتانون.

وتبعا للمعادلة فإن إنتاج ١٠ جم حمض لاكتيك (تركيز حمض اللاكتيك فى اليوغورت حوالى ١٠ جم/كجم) يحتاج إلى استهلاك ١٩ جم من اللاكتوز أو بمعنى اخر فإن ٣٠٪ من اللاكتوز الموجود فى اللبن هو الذى يتحول إلى حمض لاكتيك بينما يظل ٧٠٪ من سكر اللاكتوز على صورته الطبيعية.

وينتج *S. thermophilus* بصورة (+) L من حمض اللاكتيك وهى الصورة الأكثر قابلية للتمثيل فى الجسم بينما ينتج *L. bulgaricus* الصورة D (-) او DL المتعادلة ضوئيا وتختلف نسبة الصورة D, L لحمض اللاكتيك فى اليوغورت وغالبا ما تمثل الصورة (+) من ٥٠ - ٧٠٪ من حمض اللاكتيك المنتج.

وعند وصول الحموضة فى اليوغورت الى ١ -١,٣ فإن نشاط وتكاثر بكتريا اليوغورت يقل بدرجة ملحوظة ويؤثر فى ذلك عاملين وهما:-

١- تراكم الجلاكتوز الذى يعمل على تثبيط عمل إنزيم البيتاجلاكتوسيديز وبالتالي الحد من تكاثر البكتيريا.

٢- تكوين حمض اللاكتيك له تأثير مثبط على نشاط بكتيريا حمض اللاكتيك وخاصة *S . thermophilus* ففى أثناء تخمر اليوغورت ينخفض pH الوسط. فى حين يظل pH الخلية ثابتا عند ٦,٦ مما ينشأ عند منحنى pH على جانبى الخلية. ومن اجل إخراج البروتونات من الخلية فأن البكتريا تستهلك طاقة على صورة ATP وفى نهاية النشاط اللوغاريتمى فأن كمية ATP المتاحة لا تكون كافية و يتبع ذلك اختفاء تدرج ال pH وتعمل بذلك النشاط الإنزيمي المتراكم لكل من فوسفو بيروفات على تثبيط نشاط البكتيريا.

وبتراكم حمض اللاكتيك فى الوسط ينخفض pH اللبن حتى يصل إلى ٤,٦ وهى نقطة تعادل شحنات الكازين فتتكون الخثرة وتؤثر ال pH النهائية لليوغورت على صلابة ولزوجة الخثرة الناتجة مع مراعاة أن لسلالة البكتيريا المستخدمة تأثيرا ايضا على هاتين الصفتين. وفى ال pH الأقل من ٥ ينفرد الكالسيوم من معقد الكازين على صورة ذائبه.

والخثرة المتكونة بهذه الصورة تنتج فى اليوغورت خثرة طريه وهى أفضل فى الهضم إذا ما قورنت باللبن العادى والذى يتجبن فى المعدة لإعطاء خثرة أكثر صلابه وقد لوحظ أن زمن مرور خثرة اليوغورت فى القناة الهضمية ضعف زمن مرور اللبن مما يحسن من امتصاص المكونات الغذائية من اليوغورت.

ثانيا:- التغيرات التى تحدث فى بروتينات اللبن.

يقاس تحلل البروتين بطرق متعددة و من بينها تقدير مجموعات الأمين الحرة. وقد أمكن إثبات أن عدد تلك المجاميع فى اليوغورت بعد ٢٤ ساعة من التصنيع يبلغ ضعف عددها فى اللبن المسخن المستخدم فى صناعة اليوغورت مما يشير إلي حدوث تحلل لبروتينات اللبن أثناء تصنيع اليوغورت ويستمر تحلل البروتينات فى اليوغورت عند حفظه على درجة ٧ °م إذ تتكون العديد من الببتيدات بعد ٢٤ ساعة من تصنيع اليوغورت وتزيد نسبتها عند حفظه لمدة ٢١ يوما مما يشير إلى أن الأنزيمات التى تسهم فى تحلل البروتين فى اليوغورت تظل فعاله اثناء التخزين. وبكتريا *L.bulgaricus* لها نشاط تحللى للبروتين عالى بالمقارنة بال *S. thermophilus* ونتيجة لنشاط *L. bulgaricus* يتكون فى الوسط العديد من الأحماض الأمينية والببتيدات التى تستهلكها *S. thermophilus* ومن ناحية اخرى فأن نشاط بكتيريا ال *L. bulgaricus* يرتبط بوجود حمض الفورميك فى الوسط إذ أن هذا الحمض هو المصدر الأساسي الذى يستخدم *L. bulgaricus* فى إنتاج قواعد البيورين. وعلى ذلك فأنة لا تنمو بكتريا *L. bulgaricus* فى حالة غياب حمض الفورميك ودور *S. thermophilus* هو إنتاج حمض الفورميك وكذلك تنتج ثانى اكسيد الكربون المنشط لبكتريا *L. bulgaricus*.

ثالثا:- تحلل الليبيدات (الدهون)

يعتبر بكتريا حمض اللاكتيك عاما للها نشاط محدود فى تحلل الدهون.

رابعا:- الفيتامينات والأحماض العضوية

يحدث انخفاض لنسبة بعض الفيتامينات التى تستهلكها البكتريا مثل فيتامين ب١٢ وحمض البانتوثينك بينما يتم تخليق البعض الأخر مثل حمض الفوليك وقد وجد ان كلا السلالتان تحتاج أثناء نموها إلى حمض البانتوثينك والريبوفلافين وتستهلك *L. bulgaricus* حمض الفوليك بينما تقوم السلالة *S. thermophilus* بتخليقها.

ويحدث تغير طفيف فى الأحماض العضوية الموجودة باليوغورت أثناء عملية التخمر والتخزين فحمض الستريك لا تمثله كل من نوعي البكتيريا المستخدمة وتختفي بعض الأحماض الموجودة مثل حمض الهيبوريك hippuric الذى يتحول إلى حمض بنزويك ويتكون بعض الأحماض الأخرى مثل الفورميك والخليك والفيوماريك.

ظهور مركبات النكهة الخاصة باليوغورت

أظهرت الدراسات أن مكونات النكهة الرئيسية فى اليوغورت هى الاسيتالدهيد والداى استيل والأسيتون والبيوتانون ويعتبر الاسيتالدهيد هو المكون الرئيسي للنكهة فى اليوغورت وهو مسئول عن مدى قوة النكهة فى المنتج. و ينتج نوعى البكتيريا المستخدمةفى إنتاج اليوغورت الاسيتالدهيد ويتكون الداى استيل والأسيتون من نواتج التمثيل الغذائي للبكتيريا *S. thermophilus* اما الاسيتون والبيتانون فينتج من تسخين اللبن نفسه.

٧- تعبئة الألبان المتخمرة

تمثل التعبئة إحدى الخطوات الهامة أو الرئيسية فى صناعة منتجات الألبان المختمرة لما للعبوة من اثر هام فى المحافظة على جودة المنتج أثناء التداول وفى إطالة مدة الحفظ وما تحدثه من تأثير سيكولوجي على المستهلك. ويحدد شكل العبوة وطريقة التعبئة قوام المنتج والذى يختلف من السائل إلى النصف صلب. وكذلك لاختلافات الإضافات فى الألبان المختمرة تأثير على طريقة التعبئة. وكذلك عند احتواء المنتج على ثاني أكسيد الكربون مما يؤثر على طريقة التعبئة.

العبوة عبارة عن تكوين مصمم لاحتواء المادة الغذائية بهدف حمايتها من التلوث او الفقد او التلف او التدهور وذلك لزيادة فرصة التوزيع والبيع. والعبوة تحمي الغذاء وتحافظ علي طبيعته وتركيبة ضد العوامل الخارجية والداخلية ولابد ان يتوفر في العبوة جودة التصميم والطباعة والشكل الجيد.

الشروط الواجب توافرها في عبوة الألبان المتخمرة

يجب أن تتوافق مواد التعبئة المستخدمة مع الخواص الطبيعية والكيماوية والميكروبية للألبان المختمرة وهناك عدة اعتبارات لاختيار المواد المستخدمة فى التعبئة وخاصة أن معظمها من البوليمرات الصناعية وهذه الاعتبارات هى:-

١- يجب ان تصنع المادة الداخلية للعبوة التي تلامس المنتج مباشرة من مادة غير سامة.

٢- يجب أن لا تتفاعل مادة العبوة مع المنتج المخزن فيها.

٣- يجب أن لا يكون لها نفاذية للروائح وهذه تشابه إلى حد كبير العوامل المؤثرة فى نفاذية الغازات. ونفاذية العبوة للروائح يتم فى اتجاهين من الداخل (تفقد بذلك المنتج النكهة المميزة له أو من الخارج (انتقال الروائح غير المرغوبة إلى المنتج).

٤- يجب أن لا يكون لها نفاذية للضوء فمن المعروف إن الضوء يؤثر على اللبن و منتجاته محدثا بعض التغيرات غير المرغوبة فى الطعم و الرائحة. مثل الرائحة المنشطة بضوء الشمس أو الطعم المؤكسد.

٥- يجب أن لا يكون لها نفاذية للغازات وبخار الماء إذ يتحكم فى مدى حدوث تغير فى وزن وتركيب المنتج أثناء التداول (فقد بخار الماء) أو تغيرات كيماوية و ميكروبية (نتيجة لنفاذية الأكسيجين مثلا) تؤثر فى خواص المنتج و قدرته على الحفظ.

٦- يجب ان تقاوم العبوة تأثير الصدمات وهذا يعني ان تكون العبوة مقاومة للكسر او التشقق أو التهتك الذي يؤدي إلى تلوث ما بداخل العبوة من منتج وهذه الخصائص هامة جدا لحفظ المنتج أثناء النقل والتداول والعبوة الجيدة هي التي تحافظ علي الجبن من التلف الميكانيكي.

٧- يجب ان تكون العبوة سهلة الفتح فيجب الا يعاني المستهلك المشقة في فتح العبوة لاستهلاك المنتج وكذلك يجب ان تكون سهله في استخراج محتوياتها.

٨- يجب ان تكون العبوة مناسبة من حيث الشكل والحجم واللون ويجب ان يسهل تخزينها ورصها ونقلها.

٩- يجب ان تكون المساحة المخصصة لكتابة البينات علي العبوة مناسبة ويجب ان يتم كتابة جميع البيانات علي العبوة بخط واضح وبطريقة جيدة ومنظمة.

١٠- يراعي في العبوة تكلفتها حتى لا تكون مرتفعة الثمن وتؤدي إلى زيادة الأسعار.

التخلص من العبوات المستخدمة:-

تسبب العبوات المستعملة مشاكل بيئية عند تراكمها ولذلك فالحل الأمثل هو استخدام عبوات تتحلل بسرعة بعد دفنها. وإن لم توجد إلى الآن هذه المواد.

وبصفة عامة فان مواد التعبئة التى تستخدم فى تعبئة الألبان المختمرة هى:-

- الزجاج - البولى اثيلين - البولى بروبلين - البولى سترين
- البوليمرات المركبة - الورق المقوى والمغطى بطبقة من البولى اثيلين

وتختلف مدى التكلفة من استخدام الأنواع المختلفة من العبوات فى تعبئة الألبان المختمرة.

المواد المستخدمة الآن فى تعبئة الألبان المتخمرة:-

استخدام المواد البلاستيكية

تمثل هذه المواد اكثر المواد استخداما فى تعبئة معظم أنواع الألبان المتخمرة، وتختلف المواد البلاستيكية عن بعضها البعض فى أمور متعددة وهامة لصلاحيتها فى

التعبئة وهى:-

- قابليتها للتشكيل سواء بعملية النفخ أو بالحرارة أو بالتشكيل.
- مقاومتها للأحماض والقواعد والدهون.
- نفاذيتها للغازات وبخار الماء.
- صلابتها ومقاومتها الميكانيكية.
- تأثيرها بالحرارة.

البولى اثيلين(PE) Polyethylene

للبولى اثيلين مقاوم للأحماض والقواعد والدهن. ويسمح بإحكام غلقه جيدا ونفاذيته لبخار الماء محدودة، ولكن يسمح بنفاذ كميات كبيرة من الأكسيجين والروائح من الجو المحيط.

البولى بروبلين(PP) Polypropylene

ويستخدم بكثرة فى عمل اكواب تعبئة اليوغورت والمنتجات الشبيهة بطريقة التشكيل أو التشكيل الحراري فى مصانع البلاستيك، ومنها تنقل إلى مصانع الألبان والعبوة مقاومة للأحماض والقلويات والزيوت والدهون وهى تتحمل على درجات عالية نسبيا ونفاذيتها للغازات أقل بكثير من البولى اثيلين.

البولى ستيرين (PS) Polystyrene

للبولى ستيرين متانة ميكانيكية عالية ويمكن تشكيله حراريا باستخدام معدات التعبئة التى قد تستخدم فى مصانع الألبان ولحام العبوة حراريا. والبولى ستيرين مقاوم جيد للأحماض والقلويات، ولكنه ذو مقاومة أقل للدهون والزيوت. وله نفاذيه عالية للغازات وبخار الماء والأفضل عند استخدام معدات التعبئة التى لها خاصية تشكيل الأكواب فى مصانع الألبان استخدام مواد بلاستيكية مركبة لها خواص أفضل كعبوات.

(polyethylene glycol tetraphethalate) PEGT

يمثل PEGT السطح الداخلى من العبوة الملامس للمنتج ويستخدم بصفة عامة فى منتجات الألبان ذات المحتوى العالى من الدهون (القشدة المتخمرة) و هذا المعقد يمنع

نفاذ الغازات وبخار الماء. و يمكن لهذا المركب الارتباط بعدة طبقات من مواد بلاستيكية أخرى تؤثر فى خواص العبوة.

معدات تعبئة اليوغورت Equipments for yoghurt packaging

تتوافر فى الأسواق العديد من معدات تعبئة اليوغورت تختلف فى طاقة التشغيل و مدى الميكنة فيها. و طبيعة العبوات المستخدمة (سابقة التجهيز - تقوم ماكينة التعبئة بتشكيل العبوة - طريقة قفل العبوة وما إذا كانت التعبئة تتم تحت ظروف معقمة أم غير معقمة ......الخ). وعلى ذلك فان اختيار أى من هذه المعدات يتوقف على عوامل كثيرة نذكر منها:-

- الطريقة المقترحة للملء وقفل العبوة.
- نوع العبوة المطلوب استخدامها.
- الرغبة فى إجراء التعبئة تحت ظروف يتم التحكم فيها.
- درجة الميكنة المطلوبة.
- درجة الدقة والعناية فى الشروط الصحية المطلوبة.
- الوقت اللازم للتغير من نوع التصميمات إلى نوع أخر ومن حجم عبوة إلى اخر.
- مدى استخدام المعدة على المستوى الصناعة وكفاءتها.
- الدقة فى الملء وعدم وجود فاقد بين العبوات.
- الطاقة والعمالة المطلوبة.

معدات تعبئة لا يتم التحكم بالجو المحيط بها:

ومعظم منتجي معدات تعبئة اليوغورت ينتجون مثل هذا النوع من المعدات والتى يتم فيها تعبئة اليوغورت مع تعرضه للجو المحيط دون حماية محددة لمنطقة التعبئة. وكل هذه المعدات تستخدم العبوات سابقة الإعداد وتختلف فى طاقة التشغيل (عدد العبوات/ساعة) وفى إمكان استخدامها لتعبئة اكثر من حجم من أحجام العبوات.

معدات التعبئة التى يتم التحكم فى الجو المحيط بمنطقة التعبئة

فى هذه الأنواع من الماكينات يتم عزل منطقة التعبئة وتوفير بعض الظروف التى تؤدى إلى حماية هذه المنطقة من التلوث أما استخدام تيار من الهواء المرشح والمعقم بصورة شعاعية أو باستخدام مصادر للأشعة فوق البنفسجية لتعقيم منطقة التعبئة. ومنها نوعين من المعدات وهما معدات تستخدم العبوات سابقة التجهيز ومعدات تقوم بتشكيل العبوات وملئها وقفلها.

معدات التعبئة المعقمة

والتى يتم فيها تعقيم العبوات البلاستيك وأغطية الألومنيوم ولها أربع حارات للملء وحجم التشغيل يتراوح ما بين ٤٠٠٠ - ٩٠٠٠ عبوة فى الساعة.

ويوجد الآن أنواع من الماكينات تقوم بتعبئة اليوغورت العادي بدون إضافات فى عبوات مقفولة بغطاء الألومنيوم ثم يعبأ الفواكه الجافة أو الطعوم المطلوبة فى عبوة شفافة تستخدم كغطاء علوي لعبوة اليوغورت وبصورة مدمجة وقد تستخدم نفس ماكينة التعبئة فى تعبئة جزئ العبوة أو تستخدم ماكينتان منفصلتان للتعبئة.

ماكينات تغليف اليوغورت المعبأ

وتمثل هذه المرحلة النهائية فى إعداد عبوات اليوغورت للتوزيع حيث يتم رص عبوات اليوغورت فى صوانى من الكرتون ثم يتم تغليفها بالبلاستيك المنكمش ويتم رص الصواني وتحزيمها فى صفوف قبل وضعها فى التخزين المبرد لمدة ٢٤ ساعة قبل التوزيع. وتتم هذه الخطوات عادة فى المصانع محدودة الإنتاج بطريقة يدوية أما فى المصانع الكبيرة فتستخدم ماكينات خاصة للتغليف والتحزيم.

٨- تطبيق نظام الـ (HACCP)Hazard Analysis Critical Control Points في مصانع إنتاج الألبان المتخمرة

نبذة تاريخية

بــدات قصــة الHACCP ســنة ١٩٥٩م عنــدما طلــب مــن شــركة Pillsbury Company (للمنتجات الغذائيـة و البحوث) ان تنـتـج مـادة غذائيـة صالحة للاستخدام فى كبسولة الفضاء تحت ظروف انعدام الوزن. وكانت صعوبة التحضير هـو ان يكون هناك ضمان يقارب ١٠٠٪ يؤكد ان هذا الأكل خالي من البكتيريا والفيروسات والسموم وكذلك المخاطر الكيماوية او الفيزيقية التى قد تسبب امراضا او جروحا.

وقد تم تكوين فريق بحثي Project Group لوضع اسس للحصول على منـتج غذائي خالي من المخاطر.

فى عـام ١٩٧١م اثنـاء انعقـاد مـؤتمر ال National Conference on Food Protection تم تقويم ال HACCP لأول مرة للجمهور على هيئة ٣ مبادئ هى:-

١- التعرف على مصادر الأخطار خلال مراحل الإنتاج المختلفة.

٢- تحديد نقاط المراقبة الحرجة التى من الممكن حدوث خلالها الأخطار

٣- وضع نظام لمعالجة الأخطار.

وفى عام ١٩٧٣ قامت شركة Pillsbury بتقديم الفرصة للتدريب فى هذا المجال و قدمت لأول مرة مطبوعات عن هذا الموضوع.

ابتـداء مـن سـنة ١٩٨٥ بـدأ النظـر إليـة علـى أنـة مهـم جـدا و ضـروري فـى مجـال الصـناعات الغذائيـة. و اقـترح National Academy of Science (NAS) استخدامه فى تقيم المواصفات الميكروبية فى المواد الغذائية و انة نظام للوقاية و اصبح ال (HACCP) مهم جدا حيث ان الاختبارات التى تتم على المواد الغذائية بعد تصنيعها غير كافية.

نظام HACCP هو نظام لمنع حدوث المخاطر والأخطاء وليس للتفتيش عليها ثم معالجتها فى المنتج النهائي.

يعتمد هذا النظام على «أين» و «كيف» إذا عرفنا أين تنشأ الأخطاء وكيف نعالجها فإننا نستطيع بالطرق المختلفة أن نمنع حدوثها ويصبح التفتيش على الأخطاء فى المنتج النهائي غير ذات أهمية.

HACCP ليس نظام يعمل تلقائيا ولكي يعمل هذا النظام ويتم الاستفادة منه يجب أن يطبق فى شركة أو مؤسسة يتواجد بها الثقافة (Culture) الكافية بخصوص سلامة المواد الغذائية وأن يوضع هذا النظام فى مكانة لكي يضمن سلامة المنتج الذى ينتج تحت هذا النظام HACCP System ربما يكون (وهو احيانا كذلك) معقدا جدا فى تصميمه وتطبيقه ورعايته وفى نفس الوقت النظام الفعال الذى يضمن إنتاج الجودة وسلامة الأغذية عندما تتوفر الكفاءات والمبادئ والرغبة فى ذلك.

ويعتمد النظام على سبع مبادئ (Principles) وهى:-

١- تحديد المخاطر المحتملة المرتبطة بعملية الإنتاج فى كل مرحلة (ابتداء من الحيوان والحليب واستلام اللبن والتصنيع والحفظ والتوزيع وانتهاء بالمستهلك) وكذلك تحديد احتمالات حدوث المخاطر وتحديد الطرق المناسبة للسيطرة على هذه المخاطر.

٢- تحديد النقاط الحرجة التى يجب السيطرة عليها فى أثناء عملية الإنتاج Critical Control Points =CCP مثل صمام التحويل لضمان كفاءة البسترة وأثناء نقل اللبن إلى الأحواض عند إضافة البادئ وعند التعبئة.

٣- حدود المستويات المسموح بها (أعلى انحراف- أقل انحراف أو ما يسمى بالحدود الحرجة) لوضع المخاطر تحت السيطرة.

٤- إنشاء نظام متابعة متكامل وتحديد طريقة تفصيلية لاستخدام نتائج المتابعة فى ضبط عملية الإنتاج وتصحيح عملية المتابعة نفسها.

٥- تحديد خطوات التصحيح التى يجب القيام بها عندما تشير المقاييس أو الاختبارات أو المشاهدة إلى أن نقطة حرجة (CCP) ليست تحت السيطرة الكاملة.

٦- إنشاء سجلات مناسبة بها كل النتائج (وكذلك الطرق والمقاييس) الخاصة بنظام الـHACCP.

٧- إنشاء طريقة مناسبة توضيحية لكي تستخدم فى اختبار صلاحية عمل الـ HACCP System.

أهداف نظام الـ HACCP

- معرفة مصادر الأخطار المحتملة في عملية الإنتاج.
- القضاء علي المخاطر باستخدام الوسائل المناسبة.
- التمكن أو التحكم(القدرة علي السيطرة التامة) علي عملية الإنتاج.

أهداف العاملين :

- مراقبة ومعرفة الأخطار المحتملة.
- إنتاج منتج خالي من أي مخاطر أو عيوب.
- استخدام HACCP System لمنع وجود الأخطار والأخطاء بدلا من محاولة إيجاد الحلول بعد وقوع الأخطاء.
- أن يتم التصرف المناسب في المكان (النقطة أو مرحلة الإنتاج) المناسب.

إن الضمان الحقيقي لإنتاج الجودة (وليس إنتاج منتج ثم بعد ذلك محاولة إثبات جودته) هو تطبيق ال HACCP علي أن يكون النظام سليما ومطابقا لاحتياج الوحدة الإنتاجية وأن يقوم بالتنفيذ عمالة وإدارة تريد فعلا إنتاج الجودة وليس تطبيق النظام فقط .

بعض المصطلحات التى تستخدم فى مجال HACCP

- خطر Hazard خصائص بيولوجية او كيمائية او فيزيقية يحتمل ان تجعل المادة الغذائية غير آمنة للاستخدام الآدمي.

- نقطة تحكم Control point (CP) اي نقطة او خطوة او طريقة بها عناصر كيمائية او بيولوجية أو فيزيقية يمكن السيطرة عليها .
- التحكم Control القدرة علي القيام بواجبات لها قواعد وأصول محددة أو بمعنى آخر حالة محدودة بها طريقة تتبع وتطبق فيها مواصفات محددة.
- نقطة تحكم حرجة Critical Control Point (CCP) نقطة او خطوة او طريقة يمكن ان يتم التحكم فيها ويمكن منع خطر (Hazard) علي سلامة المنتج او القضاء علي الخطر نهائيا أو علي الأقل تقليله إلي المستوى الممكن القبول به.

تطبيق المبادئ Applications of Principles

قبل مناقشة تطبيق المبادئ وشرحها يجب أن نقوم بتصميم أو إيجاد HACCP Plan.

هناك ٦ خطوات أولية لذلك وهى:-

١- اختبار فريق HACCP.

٢- وصف تفصيلي للمادة الغذائية المنتجة وطريقة توزيعها.

٣- حدد الغرض من استخدام هذه المادة الغذائية (للمرضى او الأطفال أو كبار السن أو عامة الشعب ...).

٤- رسم تفصيلي لعملية الإنتاج Flow Diagram.

٥- تصحيح وتعديل الرسم التوضيحي Flow Diagram إذا لزم الأمر.

٦ قسم يعمل على تحليل المخاطر Hazard Analysis وعرفة العيوب التى قد تظهر فى المنتج النهائى.

اختيار الفريق HACCP Team

يتم اختيار الفريق الذى يتم تكليفه بوضع وتنفيذ ومتابعة HACCP System يجب أن يكون الأفراد المختارين عندهم المقدرة والمعرفة و الخبرة التى تساعد فى:

- التعرف على الأخطار (Hazard).
- تحديد مستوى المخاطرة (Risk).
- تجتاز نقط السيطرة والمواصفات وطريقة المتابعة والاختبار.
- اختبار عمليات التصحيح عندما يكون هناك انحرافات عن المطلوب.
- اختبار القيام بعمل بحوث عن ال HACCP إذا كانت المعلومات المتوفرة غير كافية.
- قياس قدرة نجاح HACCP Plan.

قبل القيام بعملية تحليل المخاطر (H Analysis) يجب ان يكون المنتج له وصف كامل تفصيلي مكتوب يستعان به و تسمى ورقة المواصفات أو المعايير ....الخ، وتحتوى على اسم المنتج (زبادي عادى- زبادي بالفاكهة ....الخ) وتحتوى على المواصفات القياسية للمنتج سواء كيماوية أو طبيعية أو ميكروبية وكذلك شروط التخزين والتداول ومدة الحفظ.

المراجـــــع

أولاً: المراجع العربية

- محمد الحسيني عبد السلام. ٢٠٠٢م (الألبان المختمرة). مكتبة الأسرة - الهيئة العامة للكتاب.
- احمد شوقي وجابر ريشه - الأغذية المتخمرة وعلاقتها بصحة الإنسان.
- نبيل مهنا وليلى السباعى ٢٠٠٠م - تعبئة وتغليف الأغذية ومنتجات الألبان منشأة المعارف الإسكندرية.
- طارق مراد النمر.٢٠٠١ (اللبن ومنتجاته ودورهما فى التغذية والصحة) - مكتبة بستان المعرفة - لطباعة ونشر وتوزيع الكتب - الإسكندرية.
- طارق مراد النمر.٢٠٠٢ (التصنيع اللبنى - الأساسيات والتقنيات) - مكتبة بستان المعرفة - لطباعة ونشر وتوزيع الكتب - الإسكندرية.
- الصور المستخدمة في توضيح تكنولوجيا انتاج الألبان المتخمرة الداعمة للحيوية (الباب الثالث) تم الحصول عليها من Dairy processing handbook. Tetra Pak Processing System AB S-221, 86 Lund, Sweden.
- طارق مراد النمر ٢٠٠٣ - المنتجات اللبنية الداعمة للحيوية ورقة بحثية مقدمة للمجلة العلمية الدائمة (تخصص الألبان) المجلس الأعلى للجامعات.

ثانياً: المراجع الأجنبية:

Abd El-Rahman, M.A.; Kheddr, E.E. and El-Nemr, T.M. (2002). Changes in physico-chemical properties of bioyoghurt made from lactose hydrolysed milk. J. Agric. Sci. Mansoura Univ., 27 (2): 1089-1100.

Abee, T. and Wouters, J.A. (1999). Microbial stress response in minimal processing. Inter. J. Food Microbiol., 50: 65-91.

Abou Dawood, S.A.I. (2002). Survival of non-capsulated and encapsulated *Bifidobacterium bifidum* in probiotic Karish cheese. Egyptian J. Dairy Science, 30: 43-52.

Abu-Tarboush, H.M.; Al-Dagal, M.M. and Al-Royli, M.A. (1998). Growth, viability and proteolytic activity of bifidobacteria in whole camel milk. J. Dairy Sci., 81: 354-361.

Adams, J.; Barret, C.; Barret-Bellet, A.; Benedetti, E.; Calendini, A. and Daschen, P. (1977). Essais cliniques controlés en double insu de

l'ultralevure lyophilisée. Etude multicentrique par 25 médecins de 388 cas. Gazette Medicale de France, 84: 2072-2078.

Agerbaek, M.; Gerdes,L.U. and Richelsen,B. (1995). Hypocholesterolamic effect of a new fermented milk product in healthy middle-aged men. European J. of Clinical Nutrition, 49: 346-352.

Alander, M.; Mättö, J.; Kneifel, W.; Johansson, M.; Kõgler, B.; Crittenden, R.; Mattila-Sandholm, T. and Saarela, M. (2001). Effect of galacto oligosaccharide supplementation on human faecal microflora and on survival and persistence of *B. lactis* Bb-12 in the GIT. Int. Dairy J., 11: 817-825.

Anand, S.K.; Srinivasan, R.A. and Rao, L.K. (1984). Antibacterial activity associated with *Bifidobacterium* bifidum. Cultured Dairy Products Journal, 19: 6-8.

Anon (1993). Functional foods and the role of probiotics. Aust. Dairy Foods, 14: 60-61.

Anon (1997). Nutritional benefits of yoghurt and other fermented milk products. National Dairy Council Topical Update, 8: 1-16.

Anonymous (1996). LA7 plus oligofructose. DMZ, Lebensmittlelindustrie and Milchwirtschaft, 117, p. 457.

Antonie, J.M. (1997)_. Human health benefits of cultured milk products. Comptes Rendus de l'Academie d'Agric. de Frans, 83 (1): 81-86.

Arts, T. (1996). Nutraceutical debate to define industry future. Nutritions Business Journal, 7 (2): 1-3.

Arunachalam, K. and Gill, H.S. (2000). Enhancement of natural immune function by dietary consumption of *Bifidobacterium lactis* (HNO19). Eur. J. Clinical Nutrition, 54: 263-267.

Aspasia, S. and Robinson, R.K. (1994). Effect of yoghurt culture on the survival of bifidobacteria in fermented milk. J. Soc. Dairy Technology, 47 (2): 58-60.

Australian Dairy Corporation (1993). Dairy Industry Statistics Handbook. ADC, Canberra, p. 8.

Bergey, D.H.; Harrison, F.C.; Breed, R.S.; Hammer, B.W. and Huntoom, F.M. (1923). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 1st ed. Williams and Wilkins Co., Baltimore, U.S.A.

Bertoni, J.; Calamary, L.; Maiamti, M.G. and Azzoni, A. (1994). Factors modifying the acidification rate of milk. Lait, 17 (10): 941-943.

Biley, R. (1997). Case histories and lessons to be learned from recent nutraceutical market developments in Japan and other Asian countries. Annual Meeting of the Institute of Food Technologists, Orlando, F.L.

Blanchette, L.; Roy, D.B.; Langer, G. and Gauthier, S. (1996). Production of cottage cheese using dressing fermented by bifidobacteria. J. Dairy Sci., 79: 8-15.

Buchanan, R.E. and Gibbons, N.E, Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1974), 8th ed. Williams and Wilkins, Baltimore, U.S.A.

Chernyaev, S.I.; Kazakov, A.V.; Soshin, S.A. and Chernyaeva, M.N. (1998). Bififrut-prospects and practicality. Molochnaya Promyshlennost No. 1, 16-17, edited from DSA 1998, 60 (9) Abst. 6402.

Collins, C. and Hall, B.J. (1984). Growth of bifidobacteria in milk and preparation of *Bifidobacterium infantis* for a dietary adjunt. J. Dairy Science, 67: 1376-1380.

Collins, J.K. and Thornton, G. (1998). Selection of probiotic strains for human applications. International Dairy Journal, 8: 487-490.

Colombel, J.F.; Corot, A.; Neut, C. and Romond, C. (1987). Yoghurt with *Bifidobacterium longum* reduces erythromycin-induced gastrointestinal effects. Lancet, 2: 43.

Costello, M. (1993). Probiotics foods. The Food Industry Conference Proceedings, Sydney Convention and Exhibition Centre. Publ. Food. Pro-93, Sydney, July 12-14, 1993.

Daemen, A.L.H. and Van Der Stege, H.J. (1982). The destruction of enzymes and bacteria during the spray drying of milk and whey. 2. The effect of the drying conditions. Netherlands Milk Dairy J., 36: 211-229.

Daly, C. and Davis, R. (1998). The biotechnology of lactic acid bacteria with emphasis on application in food safety and human health. Agric. Food Sci., Finland, 7: 219-250.

Dave, R.I. and Shah, N.P. (1997a). Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurt made from commercial starter cultures. Int. Dairy J., 7: 31-41.

Dave, R.I. and Shah, N.P. (1997b). Effectiveness of ascorbic acid as an oxygen scavenger in improving viability of probiotic bacteria in yoghurt made with commercial starter culture. Int. Dairy J., 7: 435-443.

Dave, R.I. and Shah, N.P. (1997c). Effect of cysteine on the viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurt made from commercial starter cultures. Int. Dairy J., 7: 537-545.

Dave, R.I. and Shah, N.P. (1998). Ingredient supplementation effect on viability of probiotic bacteria in yoghurt. J. Dairy Sci., 81: 2804-2816.

Desmond, C.; Stanton, C.; Fitzgerald, G.F.; Collins, K. and Ross, R.P. (2002). Environmental adaptation of probiotic lactobacilli toward improvement of performance during spray drying. Int. Dairy J.; 12: 183-190.

Dinakar, P. and Mistry, V.V. (1994). Growth and viability of *Bifidobacterium bifidum* in cheddar cheese. J. of Dairy Science, 77: 2854-2864.

Dolezalek, J. and Plockova, M. (1981). Sbornik Vysoke Skoly Chemicko - Technologicks V. Prague, E 52: 85-97.

Eddy, D. (1986). Setting priorities for cancer control programs. J. of the National Cancer Institute, 76: 187-199.

El-Nagar, G.F. and Shenana, M.E. (1998). Production and acceptability of bio-yoghurt. 7th Egyptian Con. for Dairy Sci. & Tech., Cairo 7-9 Nov., 227-240.

El-Nemr, T.M.; Awad, S.M. and Ali, A.H. (2003). Increasing of probiotic and therapeutic action in Karish cheese using tolue balsam extract. Egyptian J. of Food Science. V. 31 No 1/2 P.1.

El-Sayerd, E.M. (1998a). Growth and survival of bifidobacteria in Ras cheese for use as a probiotic food. Annals of Agric. Sci., Moshtohor, 36: 2381-2394.

El-Sayed, E.M. (1998b). Improving low fat Ras cheese quality by using different mixed cultures of lactic acid bacteria and some processing modifications. Annals of Agric. Sci., Moshtohor, 36: 2297-2316.

Ervol'DER; T.M.; Vyshemirskil, F.A. and Krasulya, N.G. (1999). Bio-butter milk - a product with added nutritive and biological value. Molochnaya Promyshlennost No. 1, 17-18 (cited from D.S.A 1999 no. 6774).

Fernandes, C.F.; Shahani, K.M. and Amer, M.A. (1987). Therapeutic role of dietary lactobacilli and lactobacillic fermented dairy products. FEMS Microbiol. Revs., 46: 343.

Fondén, R.; Grenov, B.; Reniero, R.; Saxelin, M. and Birkeland, S.E. (2000). Industrial panel statements: technological aspects. In: M. Alander and T. Mattila-Sandholm (Eds.), Functional foods for EV-health in 2000, Fourth Workshop, FAIR CT96-1028, Probdemo, VTT Symposium. Rovaniemi, Finland, vol. 198, 2000, pp. 43-50.

Fooks, L.J.; Fuller, R. and Ginbson, G.R. (1999). Prebiotics, probiotics and human gut microbiology. International Dairy Journal, 9: 53-61.

Friend, B.A. and Shahani, K.M. (1984). Antitumor properties of lactobacilli and dairy products fermented by lactobacilli. J. Food Prot., 47: 717.

Fuller, R. (1989). Probiotics in man and animals. Journal of Applied Bacteriology, 66: 365-378.

Gardiner, G.E.; Bouchier, P.; O'Sullivan, E.; Kelly, J.; Collins, J.K.; Fitzgerald, G.; Ross, R.P. and and Stanton, C. (2002). A spray dried culture for probiotic chedder cheese manufacture. Int. Dairy J., 12: 749-756.

Gardiner, G.E.; Ross, R.P.; Collins, J.K.; Fitzgerald, G. and Stanton, C. (1998). Development of probiotic chedder cheese containing human derived *Lactobacillus paracasei* strains. Applied and Environmental Microbiology, 64: 2192-2199.

Ghaleb, H.M.; Hanafy, N.M. and Ek-Ghandour, A.A. (1998). Some trials to produce yoghurt of low cholesterol content. 7th Egyptian Con. for Dairy Sci. & Tech., Cairo 7-9 Nov., 251-260.

Gibson, G.R. and Roberfroid, M.B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. J. of Nutrition, 125: 1401-1412.

Gibson, G.R. and Wang, X. (1994). Regulatory effects of bifidobacteria on the growth of other colonic bacteria. J. of Applied Bacteriology, 77: 412-420.

Gibson, G.R.; Beatty, E.B.; Wang, X. and Cummings, J.H. (1995). Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. Gastroenterology, 108: 975-982.

Gibson, G.R.; Rastall, R.A. and Roberfroid, M.B. (1999). Prebiotics. In: G.R. Gibson and M.B. oberfroid, Colonic microbiota, nutrition and health. Dordrecht: Kluwer, pp. 101-124.

Gibson, G.R.; Saavedra, J.M.; Macfarland, S. and Macfarlane, G.T. (1997). Gastrointestinal microbial disease. In: R. Fuller, Probiotics. 2: Application and practical aspects (pp. 10-39). Andover: Chapman and Hall.

Gilliland, S.E.; Nelson, C.R. and Maxwell, C. (1985). Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. Applied and Environ-mental Microbiology, 49: 377-381.

Gobbetti, M.; Corsetti, A.; Smacchi, E.; Zocchetti, A. and Angelis, M.D.E. (1998). Production of Crescenza cheese by incorporation of bifidobacteria. J. Dairy Science, 81 (1): 37-47.

Goldin, B.R. and Gorbach, S.L. (1984). Alterations of the intestinat micro-flora by diet, oral antibiotics and *Lactobacillus*,decreased production of free amines from aromatic nitro compounds, a 20 days and glucorinides. Journal of the National Cancer Institute, 73: 689-695.

Gomes, A.M.P.; Malcata, F.X.; Klaver, F.A.M. and Grande, H.J. (1995). Incorporation and survival of *Bifidobacterium* sp. strain Bo and *Lactobacillus acidophilus* strain Ki in a cheese product. Neth. Milk Dairy J., 49: 71-95.

Gomes, A.M.P. and Xavier Malcata, F. (1998). Development of probiotic cheese manufactured from goat milk: Response surface analysis via technological manipulation. J. Dairy Science, 81: 1492-1507.

Gomes, A.M.P.; Malcata, F.X. and Klaver, F.A.M. (1998). Growth enhancement of *Bifidobacterium lactis* Bo and *L. acidophilus* Ki by milk hydrolysate. J. Dairy Sci., 81: 2817-2825.

Gomes, A.M.P.; Vieria, M.M. and Malcata, F.X. (1998). Survival of probiotic microbial strains in a cheese matrix during ripening: simulation of

rates of salt diffusion and microorganism survival. Journal of Food Engineering, 36 (3): 281-301.

Gooda, E.; El-Nemr, T.M. and Malak, A.H. (2002). Viability of *Bifidobacterium* sp. in ice milk product enhanced by some herb oils. J. Agric. Sci. Mansoura Univ., 27 (5): 3313-3321.

Hagen, M. and Narvhus, J.A. (1999). Production of ice cream containing probiotic bacteria. Milchwissenschaft, 54 (5): 265-268.

Halpern, G.M.; Vruwink, K.G.; Van de Water, J.; Keen, C.L. and Gershwin, M.E. (1991). Influence of long-term yoghurt consumption in young adults. International J. of Immunotherapy, 7: 205-210.

Hamilton-Miller, J.M.T.; Shah, S. and Winkler, J.T. (1999). Public health issues arising from microbiological and labelling quality of foods and supplements containing probiotic microorganisms. Public Health Nutrition, 2 (2): 223-229.

Hansen, R. (1985). North European Dairy J., 51: 79-83.

Havenaar, R. and Huis in't Veld,J.H.J. (1992). Probiotics: general view. In: J.B.J. Wood, Lactic acid bacteria in health and disease (pp. 151-170). London: Elsevier.

Hekmat, S. and McMahon, D.J. (1992). Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in ice cream for use as a probiotic food. J. Dairy Science, 75: 1415-1422.

Honer, C. (1995). Culture shift. Dairy Field, 178: 54-58.

Hughes, D.B. and Hoover, D.G. (1995). Bifidobacteria: Their potential for use in American dairy products. Food Technol., 45 (4): 74-83.

Hughes, D.B. and Hoover, D.G. (1995). Viability and enzymatic activity of bifidobacteria in milk. J. Dairy Science, 78: 268.

Ishibashi, N. and Shimamura, S. (1993). Bifidobacteria: Research and development in Japan. Food Technology, 47: 126-134.

Kailasapathy,K. and Rybka,S. (1997). *L. acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. - their therapeutic potential and survival in yoghurt. The Australian J. Dairy Technol., 52: 28.

Kim, H.S. (1988). Characterization of lactobacilli and bifidobacteria as applied to dietary adjuncts. Cult. Dairy Prod. J., 23: 6.

Kisza, J.; Zbikowski, Z. and Kolenda, H. (1978). XX Int. Dairy Congr. Vol. E, 545-546.

Kheadr, E.E.; Abd El-Rahman, A.M. and El-Nemr, T.M. (2002). Survivability and antimicrobial capacity of bifidobacteria and yoghurt bacteria during refrigerated storage of yoghurt made from lactose-hudrolysed milk. Alex. J. Agric. Res., 47 (2): 81-91.

Khedkar, J.N.; Dave, J.M. and Sannabhadti, S.S. (1998). Antibacterial activity associated with *Bifidobacterium odolescentis*. J. Food Sci. and Technol., 35 (6): 527-529.

Kleesen, B.; Sykura, B.; Zunft, H.J. and Blaut, M. (1997). Effects of inulin and lactose on fecal microflora, microbial activity and bowel habit in elderly constipated persons. American J. of Clinical Nutrition, 65: 1397-1402.

Klupsch, H.J. (1983). N. Eur. Dairy J. p. 29-32.

Knorr, D. (1998). Technology aspects related to microorganisms in functional foods. Trends in Food Science and Technology, 9: 295-306.

Kulkarni, N. and Reddy, B.S. (1994). Inhibitory effect of *Bifidobacterium longum* cultures on the azoxymethane-induced aberrant crypt foci formation and fecal bacterial β-glucuronidase. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 207: 278-283.

Kurmann, J.A. and Rasic, J.L. (1991). The health potential of products containing bifidobacteria. In: Therapeutic properties of fermented milks. Ed. R.K. Robinson. Elsevier App. Food Sci., London, pp. 117-158.

Lang, F. and Lang, A. (1978). New methods of acidophilus milk manufacture and the use of bifidus bacteria in milk processing. Aust. J. Dairy Technol., 33: 66.

Lankaputhra, W.E.V.; Shah, N.P. and Britz, M.L. (1996). Evaluation of media for selective enumeration of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. Food Australia, 48 (3): 113-118.

Lankaputhra, W.E.V.; Shah, N.P. and Britz, M.L. (1996). Survival of *Bifidobacterium* during refrigerated storage in the presence of acid and hydrogen peroxide. Milchwissenschaft, 51 (2): 65-69.

Lilly, D.M. and Stillwell, R.H. (1965). Probiotics: growth promoting factors produced by microorganisms. Science, 147: 747-748.

Malak, A.H.; El-Nemr, T.M. and Attia, I.A. (2000). Caraminative bio-yoghurt: Enrichment of bifido yoghurt with some herb oils. J. Agric. Sci. Mansoura Univ., 25 (7): 4389-4399.

Marshall, V.M. (1996). Bioyoghurt: how health? Dairy Industries International, 61: 28-29.

Mashayekh, M. and Brown, R.J. (1992). Stability of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus, Str. salivarius* ssp. *thermophilus* and β-galactosidase activity in frozen cultured ice. Cult. Dairy Prod. J., 27:1.

Mattila-Sandholm, T.; Mättö,J. and Saarela,M. (1999). Lactic acid bacteria with health claims-interference and interactions with gastrointestinal flora. Inter. Dairy J., 9: 25-35.

Mattila-Sandholm, T.; Myllärinen, P.; Crittenden, R.; Mogensen, G.; Fondèn, R. and Saarela, M. (2002). Int. D.J., 12: 173-182.

Mc Farland, L.V.; Surawicz, C.M.; Greenberg, R.N.; Elmer, G.W.; Moyer, K.A.; Melcher, S.A.; Bowen, K.E. and Cox, J.L. (1995). Prevention of β-lactam-associated diarrhoea by *Saccharomyces boulardii* compared with placebo. American Journal of Gastroenterology, 90: 439-448.

Mc Farland, L.V.; Surawicz, C.M.; Greenberg, R.N.; Fekerty, R.; Elmer, G.W. and Moyer, K.A. (1994). A randomised placebo controlled trial of *Saccharomyces boulardii* in combination with standard antibiotics for Clostridium difficile disease. Journal of the American Medical Association, 271: 1913-1918.

Mc Naught, C.E. and Mac Fie (2001). Probiotics in clinical practice: a critical review of the evidence. Nutrition Research, 21: 343-353.

Medina, L.M. and Jordono, R. (1994). Survival of constitutive microflora in commercially fermented milk containing bifidobacteria during refrigerated storage. J. Food Protection, 56: 731-733.

Meghrous, J.; Euloge, P.; Junelles, A.M.; Ballongue, J. and Petitdemange, H. (1990). Screening of *Bifidobacterium* strains for bacteriocin production. Biotechnology Letters, 12: 575-580.

Metchinkoff, E. (1907). The prolongation of life. Heinemann, London.

Meydani, S.N. and Ha, W.K. (2000). Immunological effects of yoghurt. American J. of Clinical Nutrition, 71: 861-872.

Misra, A.K. and Kuila, R.K. (1990). Milchwissenschaft, 45: 155-158.

Misra, A.K. and Kuila, R.K. (1991). Bifidus milk: potential for developing countries. Indian Dairy Mass, 43: 390.

Misra, A.K. and Kuila, R.K. (1992). (a) Lait, 72: 213-220. (b) Indian J. Dairy Sci., 45: 494-495.

Misra, A.K. and Kuila, R.K. (1994). Use of *Bifidobacterium bifidum* for the manufacture of bio-yoghurt and fruit bio-yoghurt. Indian J. Dairy Sci., 47 (3): 192-197.

Modler, H.W. and Villa-Garcia (1993). The growth of *Bifidobacterium* longum in a whey based medium and viability of this organism in frozen yoghurt with low and high levels of developed acidity. Cult. Dairy Prod. J., 28 (1): 4-8.

Modler, H.W.; Garcia, L.V. and Payne, A. (1990a). Use of demineralized and deprotenated whey based media for the growth of bifidobacteria. Page 285 in Abstr. Brief Commun., 23rd Int. Dairy Congr. Vol. 1. Int. Dairy Fed., Montereal, Canada.

Modler, H.W.; Mckeller, R.C. and Yaguchi, M. (1990b). Bifidobacteria and bifidogenic factors. Can. Inst. Food Sci. Technol. J., 23 (1): 29-41.

Molokeev, A.V.; Baibakov, V.I.; Karikh, T.L.; Nikulin, L.G.; Yastsenryuk, R.M. and Molokeev, N.V. (1998). Bifidokefir therapeutic and prophylactic product. Pishchevaya Promyshlennost, 3: 61-62.

Molokeev, A.V.; Baibakov, V.I.; Nikulin, L.; Karikh, T.L.; Yastsenryuk, R.M. and Molokeev, N.V. (1998). A technique for manufacturing bifidokefir and study of its useful properties. Biotekhnologiya, 14 (4): 86-91.

Murad, H.A.; Fatma A.F. and Abdel-Ghani, S. (1997). Growth of *Bifidobacterium* in buffalo's milk supplemented with peanut milk and some amino acids. Egyptian J. Dairy Science, 25: 75.

Myllärinen, P.; Forssell, P.; von Wright, A.; Alander, M.; Mattila-Sandholm, T. and Poutanen, K. (2000). Starch capsules containing microorganism and/or polypeptides or proteins and a process for producing them. FI 104405 (WO 9952511 A1). (cited from Int. Dairy J. 12 (2002) 173-182)

Nagawa, M.; Nakabayashi, A. and Fujino, S. (1988). Preparation of the bifidus milk powder. J. Dairy Sci., 71: 1777.

Narvhus, J. (1997). Probiotic bacteria: Where do they come from and what is their function in our food. Meieriposten, 86 (12): 362-364, Norway.

Nugent, D.J. (1999). Prevention of diarrhea by the probiotic *Lactobacillus* GG. J. of Pediatrics, 134 (1): 1-2.

Oberman, H. and Libudjisz, Z. (1998). In: Microbiology of fermented foods, Wood, B.J.B., (Editor) Blackie Academic and Professional.

Orihara, J.; Sakauchi, R. and Nakazawa, Y. (1992). Types and standards for fermented milks and lactic drinks. In: Functions of fermented milk. Eds. Y. Nakazawa and A. Hosono. Elsevier App. Sci., London, pp. 3-15.

O'Riordan, K. and Fitzgerald, G.F. (1998). Evaluation of bifidobacteria for the production of antimicrobial compounds and assessment of performance in cottage cheese at refrigeration temperature. J. Appl. Microbiology, 85: 103-114.

Orla-Jensen, S. (1924). Lait, 468-474.

Otero, M.; Rodrigues, T.; Fernandez, M.; Gonzalez, J. and Lima, L.B. (1996). Yoghurt ice cream. Alimrntaria, 34 (278): 113-115.

Ouwehand, A.C.; Kirjavainen, P.V.; Shortt, C. and Salminen, S. (1999). Probiotics: mechanisms and established effect. Int. Dairy J., 9: 43-52.

Pereira, D.I.A. and Gibson, G.R. (2002). Cholesterol assimilation by lactic acid bacteria and bifidobacteria isolated from the human gut. Appl. Environ. Microbiology, 68 (9): 4689-4693.

Persin, C. and Kuhn, K. (1999). Probiotic food. Preparing the way for the market for functional foods. Milchwirtschaft, 120 (16): 686-695.

Playne, M. (1994). Probiotic foods. Food, Australia, 46 (8): 362.

Rahi, B. and Khetarpaul, N. (1998). Probiotic fermented food mixture: possible application in clinical anti-diarrhoea usage. Nutrition and Health, 12 (2): 97-105.

Rasic, J.L. (1983). The role of dairy foods containing bifido- and acidophilus bacteria in nutrition and health. N. Eur. Dairy J., 48: 80.

Rasic, J.L. and Kurmann, J.A. (1979). Fermented milk product. Vol. 1. Yoghurt - Scientific ground, technology, manufacture and preparations. Technical Data Pub. House, Copenhagen, Denmark.

Rasic, J.L. and Kurmann, J.A. (1983). Bifidobacteria and their role. In: Birkhauser Verlag, Basel, Switzerland.

Ravula, R.R. and Shah, N.P. (1998). Viability of probiotic bacteria in fermented frozen dairy desserts. Food Australia, 50 (3): 136-139.

Ravula, R.R. and Shah, N.P. (1998). Effect of acid casein hydrolysate and cysteine on the viability of yoghurt and probiotic bacteria in fermented frozen dairy desserts. Australian J. Dairy Technology, 53 (3): 159-175.

Renard, A.C. (1998). The European market: a new generation of probiotics. RLF No. 582, 24 (cited from D.S.A 1999, 61 (6) p. 438).

Renner, E. (1986). Nutritional aspects of fermented milk products. Cult. Dairy Prod. J., 21: 6.

Reuter, G. (1990). Bifidobacteria cultures as components of yoghurt-like products. Bifidobacteria Microflora, 9: 107.

Robinson, R.K. (1987). Suid-Afrikaanse Tydsckrif vir Suiwelhunde, 19: 25-27 (cited from Indian J. Dairy Sci., 47, 3, 1994).

Rowland, I.R.; Rumney, C.J.; Coutts, J.T. and Lievense, L.C. (1998). Effect of *Bifidobacterium longum* and inuline in gut bacterial metabolism and carcinogen-induced aberrant crypt foci in rats. Carcinogenesis, 19: 281-285.

Roy, D.; Desjardins, M.L. and Mondou, F. (1995). Selection of bifidobacteria for use under cheese making conditions. Milchwissen-schaft, 50 (3): 139-142.

Ruppert, A.F. (1978). Denstsche Molkerei-Zeitung, 99: 212-215.

Saarela, M.; Mogense, G.; Fondén, R.; Mättö, J. and Mattila-Sandholm, T. (2000). Probiotic bacteria: Safety, functional and technological properties. J. of Biotechnol., 84: 197-215.

Saavedra, J.M.; Bauman, N.A.; Oung, I.; Perman, J.A. and Yolken, R.H. (1994). Feeding of *Bifidobacterium bifidum* and *Streptococcus thermophilus* to infants in hospital for prevention of diarrhoea and shedding of rotavirus. Lancet, 344: 1046-1049.

Samona, A. and Robinson, R. (1994). Effect of yoghurt cultures on the survival of bifidobacteria in fermented milks. J. Soc. Dairy Technology, 47: 58-60.

Samona, A.; Robinson, R.K. and Marakis, S. (1996). Acid production by bifidobacteria and yoghurt bacteria during fermentation and storage of milk. Food Microbiol., 13: 295-280.

Salama, F.M. and Hassan, A.M. (1994). Manufacture of new yoghurt-like products. Egyptian J. Dairy Sci., 22: 31-38.

Salminen, S.; Bouley, C.; Boutron-Ruault, M.C.; Cummings, J.H.; Franck, A.; Gibson, G.R.; Isolauri, E.; Moreau, M.C.; Roberfroid, M. and Rowland, I. (1998). Functional food science and gastrointestinal physiology and function. British Journal of Nutrition, 80: 5147-5171.

Sanders, M.E. (1998). Overview of functional food. Emphasis on probiotic bacteria. Int. Dairy J., 8: 341-347.

Sanders, M.E. and Huis in't Veld, J.H.J. (1999). Bringing a probiotic-containing functional food to the market microbiological product, regulatory and labeling issues. Antonie Van Leeuwenhoek, 76: 293-315.

Sandine, W.E. (1979). Roles of *Lactobacillus* in the intestinal tract. J. Food Protection, 42: 259.

Sarkar, S. and Misra, A.K. (1998). Process for the manufacture of a new modified cultured milk product for infants and children. Milchwissen-schaft, 53 (11): 603-605.

Sarkar, S. and Misra, A.K. (1998). Selection of starter cultures for the manufacture of probiotic yoghurt. Egyptian J. Dairy Sci., 26 (2): 295-307.

Savaiano, D.A.; Abdelhak Abou Elanouar, D.A.G.; Smith, D.E. and Levitt, M.D. (1984). Lactose malabsorption from yoghurt, pasteurised yoghurt, sweet acidophilus milk and cultured milk in lactase deficient individuals. The American Journal of Clinical Nutrition, 40: 1219-1223.

Scardovi, V. (1986). Genus *Bifidobacterium*. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Eds. P.H. Dneath, N.S. Nair, M.E. Sharpe and J.G. Holt. Williams and Wilkins, Baltimore, p. 1418.

Scardovi, V. and Trovatelli, L.D. (1965). The fructose-6-phosphate shunt as peculiar of hexose degradation in the genus *Bifidobacterium*. Annali di Microbiologia, 15: 19.

Schaafsma, G.; Meuling, W.J.A.; Van Dokkum, W. and Bouley, C. (1998). Effects of a milk product, fermented by *Lactobacillus acidophilus* and with fructo-oligosaccharides added, on blood lipids in male volunteers. European J. of Clinical Nutrition, 52: 436-440.

Schuler-Malyoth, R.; Ruppert, A. and Muller, F. (1968). Milchwissen-schaft 23; 356-360; 554-558 and 614-618.

Shah, N.P. and Lankaputhra, W.E. (1997). Improving viability of *L. acidophilus* and Bifidobacterium spp. in yoghurt. Int. Dairy J., 7: 349-456.

Shah, N.P.; Lankaputhra, W.E.; Britz, M. and Kyle, W.S. (1995). Survival of *L. acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in commercial yoghurt during refrigerated storage. Int. Dairy J., 5: 515-521.

Sieber, R. and Schluep, K. (1998). The use of probiotic bacteria in cheese is possible. Schweizerische Milchzeitung, 124 (1/2): 7.

Sonoike, K.; Mada, M. and Mutai, M. (1986). Selective agar medium for counting viable cells of bifidobacteria in fermented milk. J. Food Hyg. Soc., Japan, 27: 238.

Surawicz, C.M.; Elmer, L.W.; Speelman, P.; Mc Farland, L.V.; Chinn, J. and Van Belle, G. (1989). Prevention of antibiotic-associated diarrhoea by *Saccharomyces boulardii*: a prospective study. Gactroenterology, 96: 981-988.

Svensson, U. (1999). Industrial perspectives, In: G.W. Tannock (ed.) Probiotics: A critical review. Wymondham, UK, Horizon Scientific Press.

Tamime, A.Y. and Robinson, R.K. (1985). Yoghurt: Science and Technology. Pergamon Press, Oxford, pp. 276-374.

Tamime, A.Y.; Marshall, V.M.E. and Robinson, R.K. (1995). Microbiological and technological aspects of milks fermented by bifidobacteria. J. Dairy Res., 62: 151-187.

Tamura, Z. (1983). Nutriology of bifidobacteria Bi-bifidobacteria, Microflora, 2:3.

Tannock, G.W. (1998). Studies of the intestinal microflora a prerequisite for the development of probiotics. Int. Dairy J., 8: 527-533.

Teixeira, P.; Castro, H. and Kirby, R. (1995). Spray drying as a method for preparing concentrated cultures of *L. bulgaricus*. J. Appl. Bacteriol., 78: 456-462.

Teixeira, P.; Castro, H.; Mohacsi-Farkas, C. and Kirby, R. (1997). Identification of sites of injury in *L. bulgaricus* during heat stress. J. Appl. Microbiol., 83: 219-226.

Tissier, H. (1899). C.R. Soc. Biol. 51, 943-945. (from Martin *et al.*(1989). Selective enumeration of *Bifidobacterium* in fermented dairy products. Neth. Milk Dairy J., 43: 395-405.

Tomoda, T.; Nakano, Y. and Kageyama, T. (1983). Variation of intestinal *Candida* of patients with leukaemia and the effect of *Lactobacillus* administration. Japanese J. of Medicinal Mycology, 24: 356-358

Tyler, E.V. and Robbers, E.J. (1999). In: Tyler's herbs of choice, the therapeutic use of phytomedicinals. The Haworth Herbal Press, An Imprint of the Haworth Press, Inc, New York, London.

Varnam, A.H. and Sutheland, J.P. (1994). In: Milk and milk products. Chapman and Hall, London, pp. 347-380.

Ventling, B.L. and Mistry, V.V. (1993). Growth characteristics of bifidobacteria in ultrafiltered milk. J. Dairy Science, 76: 962-971.

Vinderola, C.G.; Costa, G.A.; Regenhardt, S. and Reinheimer, J.A. (2002). Influence of compounds associated with fermented dairy products on the growth of lactic acid starter and probiotic bacteria. Int. Dairy J., 12: 579-589.

Vinderola, C.G.; Mocchiutti, P. and Reinheimer, J.A. (2002). Interactions among lactic acid starter and probiotic bacteria used for fermented dairy products. J. Dairy Science, 85: 721-729.

Yazawa, K. and Tamura, Z. (1982). Search for sugar sources for selective increases of bifidobacteria. Bifidobact. Microflora, 1: 39.

Yong, C.K. and Nelson, F.E. (1978). Survival of *Lactobacillus acidophilus* in sweet acidophilus milk during refrigerated storage. J. Food Prot., 41 (4): 248-250.

Younis, M.F.; Dawood, A.H.; Hefny, A.A. and El-Sayed, R.M. (1998). Manufacture of probiotic ice cream. In: Proceedings of the 7th Egyptian Conference for Dairy Science and Technology, Cairo, Egypt, 7-9 November, 1998, pp. 215-226.

Zubillage, M.; Weill, R.; Postaire, E.; Goldman, C.; Caro, R. and Boccio, J. (2001). Effect of probiotics and functional foods and their use in different diseases. Nutrition Research, 21: 569-579.

فهرس



رقم الآيداع بدار الكتب والوثائق المصرية
٢٠٠٤/٥٤٣٨
I.S.B.N 977-6015-84-0



مكتبة بستان المعرفة
لطباعة ونشر وتوزيع الكتب
كفر الدوار ــ الحدائق ــ بجوار نقابة التطبيقيين
☎ ٠٤٥/٢٢٢٤٢٢٨ الإسكندرية: ٠١٢٢٣٥٣٤٨١٤